

II-1053 - REMOÇÃO DE FLUORETO EM ÁGUA POR SISTEMA ALAGADO CONSTRUÍDO: POTENCIAL FITORREMEIADOR MACRÓFITO *EICHHORNIA CRASSIPES*

Thiago Oliveira de Souza⁽¹⁾

Engenheiro Ambiental. Mestrando em Engenharia Agrícola, Universidade Federal de Viçosa.

Lucas Rafael Lommez Vaz⁽²⁾

Doutor em Engenharia Agrícola, Universidade Federal de Viçosa.

Thamires Fernanda Gomes⁽³⁾

Mestre e Doutora em Botânica, Universidade Federal de Viçosa.

Alisson Carraro Borges

Doutor em Engenharia Hidráulica e Saneamento, Universidade Federal de Viçosa

Endereço⁽¹⁾: Rua dos Estudantes, 75 - Centro - Viçosa - MG - CEP: 36570-081 - Brasil - Tel: (32) 99821-1411 - e-mail: thiago.o.souza@ufv.br

RESUMO

Testes histoquímicos e análises morfoanatômicas são importantes para se avaliar o potencial fitorremediador de uma espécie para um determinado contaminante. No presente trabalho, avaliou-se o efeito do fluoreto nas folhas e raízes de *Eichhornia crassipes*, quando do tratamento em sistemas alagados construídos. O resultado dos testes histoquímicos identificou maior acúmulo de amido nas raízes como resposta ao estresse promovido pelas altas concentrações de F⁻. Houve diferença no acúmulo de amido entre os SACs operados sob TRH de 2 e 5 dias sem a auxina para os leitos sob TRH 2 e 5 dias com a auxina, ao passo que para os leitos de 10 dias não se observou diferença significativa. A exposição ao fluoreto resultou em redução no comprimento de raízes e perda de células da epiderme, exoderme e parênquima de preenchimento, deixando o aerênquima exposto. Além disso, as células do aerênquima apresentaram formato alterado quando comparadas com o controle. Apesar destes danos, *E. crassipes* apresentou bom potencial fitorremediador e, em paralelo, os sistemas alagados construídos elevadas apresentaram altas taxas de remoção de fluoreto.

PALAVRAS-CHAVE: Fluoreto, Fitorremediação, Potencial Fitorremediador, Aguapé, Análises morfoanatômicas, testes histoquímicos.

INTRODUÇÃO

A água tem uma alta capacidade de dissolução e transporte e pode solubilizar um grande número de substâncias, seja na superfície ou no subsolo. As propriedades da água podem ser alteradas por processos naturais ou intervenção humana, podendo afetar determinados usos.

Poluentes inorgânicos presentes na água não são degradados, mas podem ser estabilizados ou sequestrados nos tecidos de plantas que serão tratadas posteriormente, esse processo é denominado fitorremediação (LAMEGO; VIDAL, 2007). A fitoextração e a fitofiltração são mecanismos de fitorremediação, em que tem como princípio o acúmulo de compostos inorgânicos nos tecidos das plantas e o uso de raízes de plantas para absorver ou adsorver poluentes dos fluxos de águas. Para o seu uso é desejável que as plantas usadas possuam taxa de crescimento rápido, alta biomassa, sistema radicular extensivo e capacidade de tolerar grandes quantidades do composto desejável (PADMAVATHIAMMA; LI, 2007).

Os sistemas alagados construídos (SACs) são tecnologias de tratamento de águas residuárias que utilizam os mecanismos físicos de tratamento, como sedimentação e adsorção, e biológicos, como a biorremediação e fitorremediação (MATOS; MATOS, 2017). Uma forma de otimizar esse sistema é aplicando fitormônios. De

acordo com FAROOQ et al. (2015) os fitormônios, produzidos pelas plantas, controlam ou regulam a germinação, o crescimento, o metabolismo e podem aliviar os efeitos tóxicos de contaminantes no crescimento das plantas. Auxina é o hormônio de crescimento natural mais abundante.

O objetivo de realizar os testes histoquímicos e as análises morfoanatômicas é compreender os mecanismos utilizados pelas plantas para se adaptarem a presença do poluente, dessa forma é possível conhecer o potencial fitorremediador da planta (OKSANEN; KONTUNEN-SOPPELA, 2021).

Em níveis elevados, o fluoreto se torna um problema preocupante de saúde pública, podendo causar fluorose dental e óssea em crianças e adultos (HELLER; PÁDUA, 2006). O fluoreto é presente na água devido ao intemperismo de rochas contendo minerais com fluoreto em sua composição ou o lançamento de efluentes líquidos contendo alto teor desse íon. Esses íons podem ser removidos de ambientes contaminados por meio da fitorremediação. O fluoreto é um íon fitotóxico capaz de causar estresse à planta, ou seja, traz um fator ambiental desfavorável às condições ótimas para a vida dessa planta, podendo causar mudanças e respostas nos níveis funcionais do organismo (JALAL; LI, 2023).

O presente trabalho teve como intuito avaliar o potencial fitorremediador da macrófita *Eichhornia crassipes* em escala demonstrativa para remover fluoreto de águas contaminadas, avaliando os efeitos fitotóxicos na morfoanatomia da raiz da planta e por meio de testes histoquímicos.

OBJETIVOS

Investigar os efeitos do fluoreto nas plantas *Eichhornia crassipes* (aguapé) utilizadas nos Sistemas Alagados Construídos, para fitorremediação de águas contaminadas. Tendo como objetivos específicos: Realizar estudo morfoanatômico para identificar o comportamento da planta na presença do fluoreto e com a presença da auxina; realizar testes histoquímicos para obter os possíveis estresses que a planta pode estar tendo com o poluente e se a presença aplicação do hormônio alivia esse estresse.

METODOLOGIA UTILIZADA

Os sistemas foram construídos em tanques de fibra de vidro, com dimensões em metros: 2x0,5x0,6 (comprimento X largura X profundidade). O meio suporte, preenchido por brita nº 0, possuía altura de 0,25 m e lâmina de água atingia 0,2 m. A planta utilizada foi a espécie *Eichhornia crassipes* (aguapé). O abastecimento foi realizado por bombas dosadoras, contendo água, fluoreto com concentração de 15 mg L⁻¹ e, para os leitos com aplicação de auxina, concentração de 2,5 µM.

Os aguapés foram plantados nos leitos dos SACs, resultando numa densidade de plantio de 26 plantas por metro quadrado em cada sistema. Aclimação foi feita em solução nutritiva de Clark (25%) por 30 dias. Foram utilizados 9 leitos, sendo divididos da seguinte forma: sem plantas, com plantas e sem aplicação de hormônio e com plantas e aplicação de hormônio. Em cada forma de tratamento havia leito com diferentes tempos de retenção hidráulica (TRH), sendo eles de 2, 5 e 10 dias. Além desses, foi destinado uma caixa de água de 1000 L de volume para as plantas do controle (sem aplicação do fluoreto).

Para as análises anatômicas foram coletadas amostras de raízes a 3 cm do ápice radicular aproximadamente, de três indivíduos de cada tratamento. As amostras foram fixadas em solução de formaldeído, ácido acético e etanol (FAA 50%) (Johansen, 1940) e, posteriormente, o material foi desidratado em série etílica crescente e incluído em historresina glicol-metacrilato, de acordo com Gerrits (1964). Cortes transversais com 5 µm de espessura foram realizados com auxílio de um micrótomo rotativo de avanço automático (RM2265, Leica Microsystems Inc., Deerfield, USA) e corados em Azul de Toluidina (pH=4,0) (O'Brien & McCully, 1981). As lâminas permanentes foram montadas em Permout. As imagens foram capturadas em microscópio de luz (modelo Olympus AX70TRF, Olympus Optical, Tóquio, Japão) com sistema de captura de imagens (Axio Vision Release 4.8.1, Carl Zeiss Vision GmbH, Alemanha), localizado no Laboratório de Anatomia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa (UFV).

Para os testes histoquímicos foram realizados cortes à mão livre com auxílio de lâmina de aço inoxidável para obtenção de secções transversais das raízes de todos os tratamentos e do controle, as amostras obtidas foram testadas com três reagentes: cloreto férrico de acordo metodologia de Johansen (1940) para compostos fenólicos não estruturais, azul de toluidina (O'Brien et al. 1964) para compostos fenólicos estruturais e não estruturais, e reagente de lugol (Johansen 1940) para detecção de amido. Um microscópio AX70 Zeiss AxionVision 1388x1040 com câmera acoplada foi utilizado para análise e obtenção de imagens das amostras submetidas ao processamento anatômico e histoquímico.

RESULTADOS OBTIDOS

Os testes histoquímicos realizados foram para identificar amido, composto fenólico e danos nas raízes. Nas figuras 9 e 10 são apresentados os resultados das lâminas obtidas pelos testes.

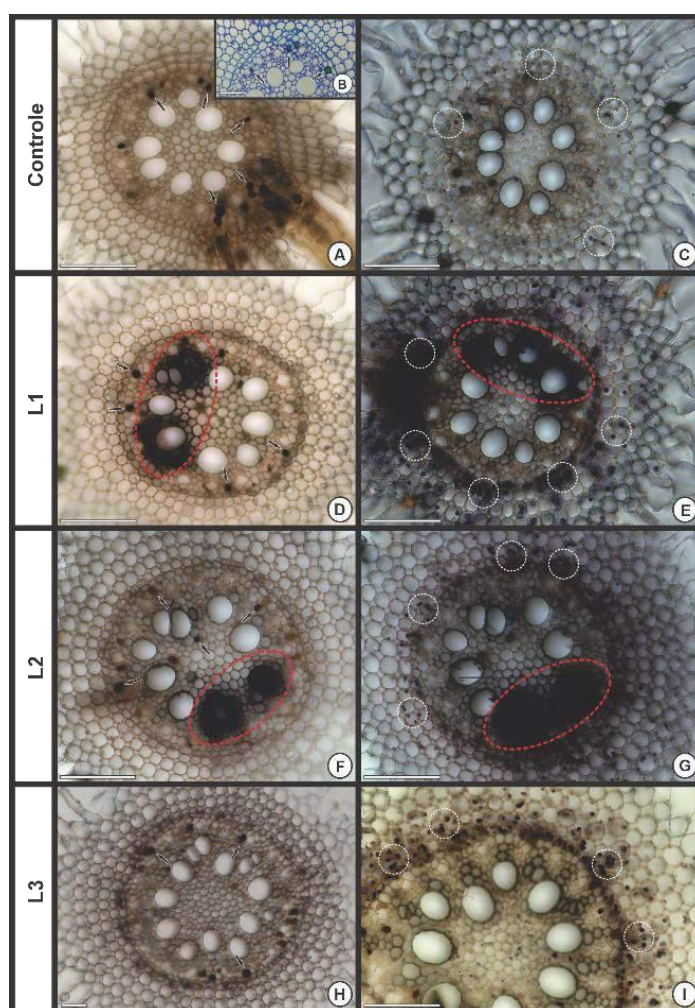


Figura 1: Testes histoquímicos nas raízes de *Eichhornia crassipes*: A-B, D, F, H. Células com composto fenólico (setas); C, E, G, I. Grãos de amido (círculos brancos); D-G. Danos no tecido vascular (elipses vermelhas). Escalas: A, C-I (100µm); B (50µm).

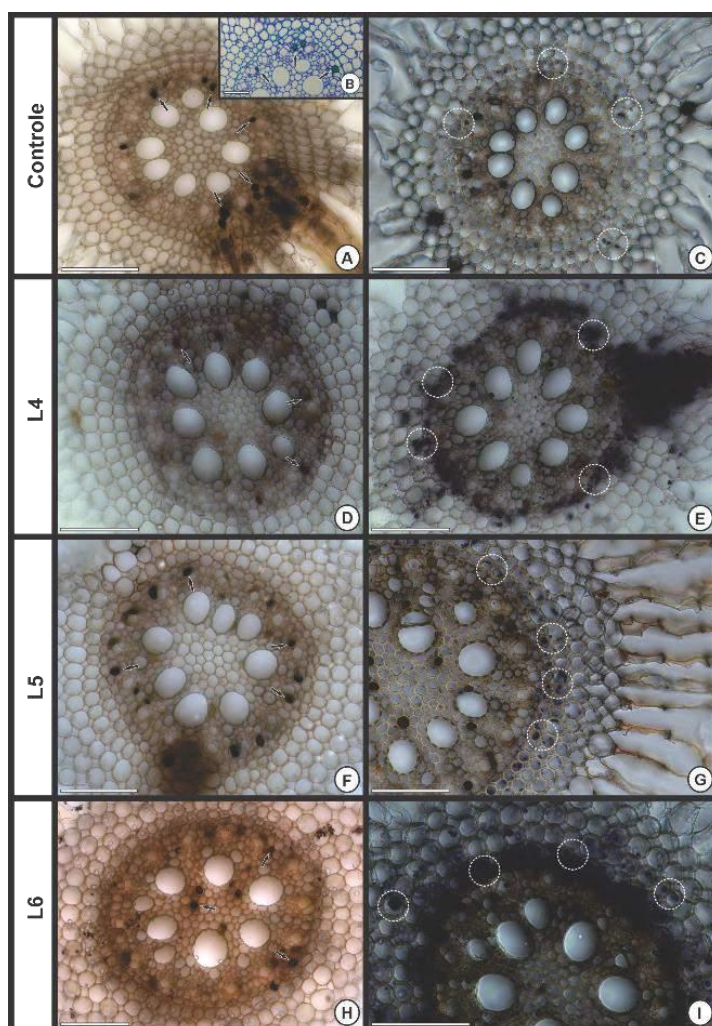


Figura 2: Testes histoquímicos nas raízes de *Eichhornia crassipes*: A-B, D, F, H. Células com composto fenólico (setas); C, E, G, I. Grãos de amido (círculos brancos). Escalas: A, C-I (100µm); B (50µm).

Tanto no controle (Fig. 9A-B e 10A-B) como nos demais tratamentos (Fig. 9D, F, H e 10D, F, H) foi observado a presença de células no tecido vascular contendo compostos fenólicos não estruturais em seu interior, porém não foi observado alteração expressiva para obtenção de uma correlação entre a produção deste composto nos indivíduos submetidos ao estresse com e sem auxina e o controle.

Na análise com lugol foi observado a presença de amido acumulado tanto nas raízes do controle (9C e 10C) como nos demais tratamentos, no entanto os indivíduos submetidos ao estresse de fluoreto acumularam mais amido em suas raízes (9E, G, I e 10E, I), com exceção do leito com plantas e auxina (L5) em que o acúmulo de amido se assemelha ao leito controle.

Ainda foi observada a presença de danos no tecido vascular (Fig. 9D-G) nos indivíduos dos leitos 1 e 2. Esse resultado não aconteceu em nos leitos de 10 dias sem a auxina e em nenhum outro com a auxina (L3, L4, L5 e L6).

Para a análise dos danos morfoanatômicos foram selecionados os leitos de tempo de retenção hidráulica de 10 dias sem a adição de auxina e o leito com tempo de retenção hidráulica de 10 dias com a adição de hormônio auxina. Para essa análise foi coletada somente a raiz das plantas, por esperar que o dano fosse causado na região do contato do fluoreto com a raiz, por onde ele é absorvido pelas plantas.

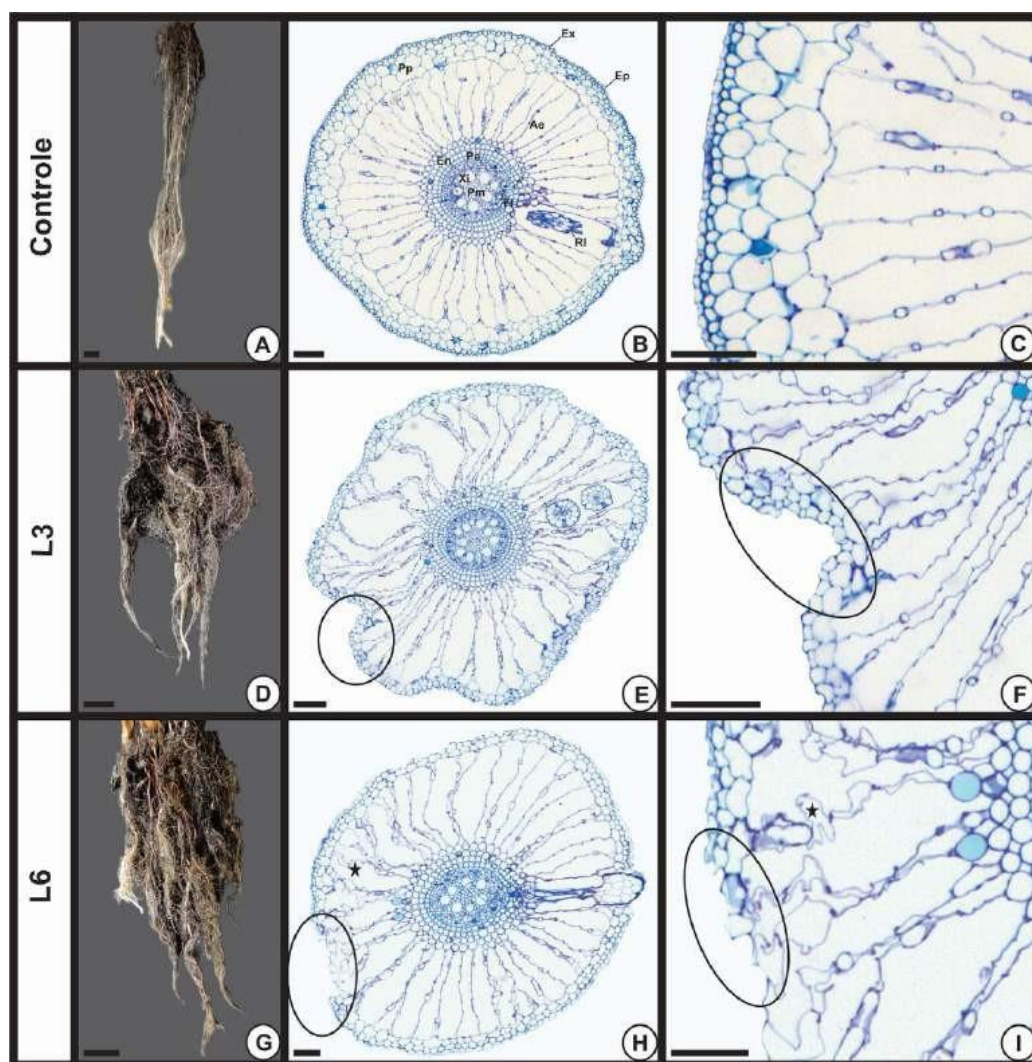


Figura 3: Raiz de *Eichhornia crassipes* exposta à sistema contendo fluoreto (15 mg/L). A, D, G. Sintomatologia visual. A. Controle. D. L3: Tratamento com fluoreto. 10 dias sem auxina. G. L6: Tratamento com fluoreto. 10 dias com auxina. B, C, E, F, H, I. Cortes transversais em microscopia de luz. B, C. Controle. E, F. L3: Tratamento com fluoreto. 10 dias sem auxina. H, I. L6: Tratamento com fluoreto. 10 dias com auxina. E, F. Perda das células epidérmicas (elipse). H, I. Perda das células da epiderme, exoderme e parênquima de preenchimento (elipse). Células do aerênquima com formato alterado (estrela). Ep. Epiderme. Ex. Exoderme. Pp. Parênquima de preenchimento. Ae. Aerênquima. Rl. Raiz lateral. En. Endoderme. Pe. Periciclo. Fl. Floema. Xi. Xilema. Pm. Parênquima medular. Escalas: A, D, G= 2cm. B, C, E, F, H, I= 100µm.

A sintomatologia visual das raízes de *E. crassipes* consistiu em redução no comprimento deste órgão, nas plantas que estavam expostas ao fluoreto (Fig. 11D, G). O tratamento controle não apresentou redução no crescimento das raízes.

Em microscopia de luz os danos encontrados em plantas expostas ao fluoreto incluíram perda das células epidérmicas (Fig. 11E, F, H, I – Fig. 12C – H), além da perda de células da exoderme e parênquima de preenchimento, deixando o aerênquima exposto (Fig. 13H, I). Além disso, as células do aerênquima apresentaram formato alterado (Fig. 11H, I – Fig. 12E, F) quando comparadas com o controle.

A epiderme é o primeiro tecido a entrar em contato com a solução contaminada, estando entre os primeiros tecidos a sentir os sintomas fitotóxico causados pelo fluoreto (Castro et al., 2009). Dessa forma, é esperado que houvessem danos nesse tecido.

ANÁLISE E DISCUSSÕES DOS RESULTADOS

Um mecanismo das plantas a se adaptarem a um ambiente adverso, sob estresse, é o acúmulo de amido, fonte de energia. O fluoreto causou um estresse na planta e como resposta ela acumulou mais amido, podendo ter deixado de investir em crescimento vegetativo e reprodutivo para acumular reserva.

Há uma evidente diferença no acúmulo de amido dos leitos de 2 e 5 dias sem a auxina (L1 e L2) para os leitos de 2 e 5 dias com a auxina (L4 e L5). Isso se deve a elevada carga de poluente que todos esses sistemas estão recebendo, porém, a auxina causa um alívio no estresse que as plantas do leito 4 e 5 estão sofrendo por conta desse poluente. O leito de 5 dias com a auxina (L5) apresentou os melhores resultados, estando muito próximos as plantas do controle, apesar de estarem submetidos a uma carga de poluente elevada. Esse resultado é condizente com as eficiências atingidas pelos leitos. Já os leitos de 10 dias com e sem auxina não tiveram diferença significativa entre si e pouca diferença com o controle, isso ocorre devido à baixa carga do poluente e de hormônio auxina que entram no sistema por dia.

Os danos no tecido vascular (Fig. 9D-G) nos indivíduos dos leitos 1 e 2 (L1 e L2). Esse resultado não aconteceu em nos leitos de 10 dias sem a auxina e em nenhum outro com a auxina (L3, L4, L5 e L6). Pode se presumir que isso ocorre devido a elevada carga e falta do hormônio para essas plantas. É provável que a auxina está ajudando a aliviar o estresse das plantas, e no leito de 10 dias sem auxina (L3) a carga é menor, por isso não foi observado dano.

FAROOQ et al. (2015) estudaram o efeito do cádmio nas plantas. Foi observado que o estresse de cádmio causa a degradação da auxina nativa. Concentrações mais altas de cádmio produzem espécies reativas ao oxigênio, que ativam as oxidases de auxina. É possível que o fluoreto esteja atrapalhando a produção natural da auxina pela planta assim como ocorre em áreas contaminadas por cádmio. Porém é necessário que haja maiores estudos para entender como a aplicação de auxina ajuda a planta a reduzir os efeitos deletérios do poluente e se realmente o fluoreto está causando a redução da auxina natural pelas plantas.

Uma característica que indica o potencial fitorremediador do *E. crassipes* é a proporção de aerênquima na raiz não ter sido alterada. A proporção de aerênquima na raiz é uma característica essencial para as plantas que estão em ambiente aquático (Pereira et al., 2008, 2010; Souza et al., 2009).

CONCLUSÕES

O estresse provocado pelo fluoreto nas plantas implicou em acúmulo de amido nas raízes nos leitos que apresentavam alta carga de entrada do poluente. A aplicação do hormônio auxina auxiliou no alívio do estresse causado, sendo comprovado pelo menor acúmulo de amido obtido nesses leitos. Ademais foram ligeiramente mais eficientes na remoção do fluoreto e mantiveram remoção elevada por maiores períodos, podendo afirmar que houve uma otimização do sistema.

A exposição ao fluoreto resultou em redução no comprimento de raízes e perda de células da epiderme, exoderme e parênquima de preenchimento, deixando o aerênquima exposto. Além disso, as células do aerênquima apresentaram formato alterado quando comparadas com o controle. Apesar desses danos, o aguapé utilizou de mecanismos adaptativos como o acúmulo de amido e a redução do crescimento com o objetivo de se manter vivo. Dessa forma, foi possível concluir que o aguapé apresenta um alto potencial como espécie fitorremediadora.

A tecnologia se apresenta como alternativa eficiente e viável economicamente, podendo ser utilizada por indústrias que apresentam efluentes com alta carga de fluoreto, como indústrias de cerâmica e siderúrgicas. Pode ser utilizada também por estações de tratamento de água que captam água com elevada concentração de fluoreto, situação ocorrente em muitas águas subterrâneas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. FAROOQ, Hussna; ASGHAR, Hafiz Naeem; KHAN, Muhammad Yahya; SALEEM, Muhammad; ZAHIR, Zahir Ahmad. Auxin-mediated growth of rice in cadmium-contaminated soil. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, [S. l.], v. 39, n. 2, p. 272–276, 2015. DOI: 10.3906/tar-1405-54.
2. Gerrits, P.O., 1964. The Application of Glycol Methacrylate Histotechnology: Some Ground Principles. Leica GmbH, Germany.
3. HELLER, Léio; PÁDUA, Vlter Lúcio De. **Abastecimento de água para o consumo humano**. [s.l: s.n.].
4. JALAL, Golam; LI, Xin. Scientia Horticulturae Dopamine-induced abiotic stress tolerance in horticultural plants. **Scientia Horticulturae**, [S. l.], v. 307, n. September 2022, p. 111506, 2023. DOI: 10.1016/j.scienta.2022.111506. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2022.111506>.
5. Johansen, D. A., 1940. Plant microtechnique. New York: McGraw-Hill Book Co. Inc., 423p.
6. LAMEGO, Fabiane Pinto; VIDAL, Ribas Antonio. Fitorremediação: Plantas Como Agentes De Despoluição? **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, [S. l.], v. 17, p. 9–18, 2007. DOI: 10.5380/pes.v17i0.10662.
7. MATOS, A. ..; MATOS, M. P. **Disposição de águas residuárias no solo e em Sistemas alagados construídos**. Viçosa.
8. O'Brien, T.P. & McCully, M.E., 1981. The study of plant structure principles and select methods. Melbourne, Termarcaphi Pty.
9. OKSANEN, Elina; KONTUNEN-SOPPELA, Sari. ScienceDirect Plants have different strategies to defend against air pollutants. **Current Opinion in Environmental Science & Health**, [S. l.], v. 19, p. 100222, 2021. DOI: 10.1016/j.coesh.2020.10.010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.coesh.2020.10.010>.
10. PADMAVATHIAMMA, Prabha K.; LI, Loretta Y. Phytoremediation technology: Hyper-accumulation metals in plants. **Water, Air, and Soil Pollution**, [S. l.], v. 184, n. 1–4, p. 105–126, 2007. DOI: 10.1007/s11270-007-9401-5.