

Crescimento *in vitro* de *Chrysopogon zizanioides* (capim vetiver) e *Cymbopogon winterianus* (capim citronela) sob presença de metais pesados

Ludmila M^a G. G. de Camargos⁽¹⁾; Ricardo Monteiro Corrêa ⁽²⁾; Gustavo Augusto Lacorte⁽³⁾

⁽¹⁾Mestranda em Sustentabilidade e Tecnologia Ambiental – Instituto Federal Minas Gerais – *campus* Bambuí. Fazenda Varginha – Rod. Bambuí/Medeiros – Km 5 – Caixa Postal 05 – Cep: 38900-000 - Bambuí/MG – Brasil. ⁽²⁾Professor Orientador – IFMG. ⁽³⁾Professor Co-Orientador – IFMG.

RESUMO: A intensificação dos processos industriais, dentre outras atividades humanas, tem aumentado o risco de contaminação de solos por metais pesados e, conseqüente comprometimento de áreas agricultáveis. Diante desse cenário, diversos métodos de remediação estão sendo propostos com a finalidade de recuperar solos contaminados por poluentes orgânicos e metais pesados, sendo que a fitorremediação é uma técnica que vem conquistando a atenção do meio científico. Nas práticas de fitorremediação, a seleção das espécies acumuladoras representa uma etapa crucial, visto que espécies vegetais diferentes apresentam comportamento distinto em resposta à presença de metais pesados no solo. O objetivo do presente trabalho será avaliar o comportamento, *in vitro*, das espécies vegetais *Chrysopogon zizanioides* (capim vetiver) e *Cymbopogon winterianus* (capim citronela) quando cultivadas *in vitro* em presença de concentrações crescentes de metais pesados comumente emitidos pela atividade de produção de cimento. O ensaio experimental será conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, do Departamento de Ciências Agrárias, IFMG – *campus* Bambuí. Para tanto as espécies vegetais *C. zizanioides* e *C. winterianus* serão estabelecidas *in vitro* e posteriormente expostas a cinco concentrações diferentes de dois metais pesados pré-definidos. Após 30 dias, serão avaliadas as variáveis respostas – altura da plantas, número de raízes, número de folhas, comprimento de internódios, biomassa seca de raiz, biomassa seca de parte aérea, biomassa seca total e razão raiz/parte aérea. Os dados obtidos serão analisados, através do software Assistat, por meio de regressão polinomial. Espera-se demonstrar a que técnica de cultivo *in vitro* pode ser utilizada como ferramenta auxiliar importante no estudo de alterações metabólicas de plantas em condições de estresse provocados pela presença de metais pesados e que as espécies vegetais *C. zizanioides* e *C. winterianus* apresentam características morfológicas e fisiológicas que as tornam potencialmente aptas para a remediação de solos contaminados por metais pesados.

Palavras-chave – Cultura de tecidos vegetais; fitorremediação; xenobióticos; plantas hiperacumuladoras.

VIII Semana de Ciência e Tecnologia – IFMG *campus* Bambuí
I Seminário dos Estudantes de Pós-Graduação

INTRODUÇÃO

A intensificação dos processos industriais, dentre outras atividades humanas, tem aumentado o risco de contaminação de solos por metais pesados e, conseqüente comprometimento de áreas agricultáveis (Vasconcellos et al., 2012). Dentro desse contexto, o processo produtivo de fabricação de cimento tem sido apontado como um grande gerador de impactos ambientais nos ecossistemas e nas comunidades localizadas no entorno de fábricas, devido à emissão de poluentes atmosféricos perigosos, dos quais se destacam as dioxinas e furanos, ácidos halogenados, além de metais tóxicos como mercúrio, chumbo, cádmio, arsênio, zinco, níquel e cromo. Os metais pesados, devido ao seu comportamento físico-químico, podem ser dissipados na forma de particulado ou de vapor através das chaminés das fábricas, mesmo que gerados em pequenas concentrações. Tal fato demonstra a necessidade de avaliação das relações ambientais existentes entre as Indústrias Cimenteiras e o meio físico que as circunda, assim como a importância do desenvolvimento e aperfeiçoamento de medidas preventivas e técnicas de recuperação de áreas já degradadas, uma vez que esses contaminantes exercem forte pressão sobre o equilíbrio e a qualidade dos ecossistemas (Santi e Filho, 2004).

Métodos de remediação baseados em princípios físicos, químicos e biológicos estão sendo propostos com o intuito de se reabilitar solos contaminados por metais pesados e, conseqüentemente, possibilitar o retorno da funcionalidade e estabilidade do ecossistema afetado pela atividade mineradora. No entanto, a necessidade de altos investimentos, na maioria das vezes, acaba por inviabilizar grande parte desses procedimentos. O uso de tecnologias adequadas e com menor custo torna-se, então, essencial. Dessa forma, a fitorremediação tem ganhado a atenção do meio científico, visto que – quando comparada aos outros métodos tradicionais de remediação química e física – pode ser considerada uma técnica promissora, de baixo custo e de grande eficiência na remediação, *in situ*, de solos contaminados por poluentes orgânicos e metais pesados (Branches e Rodrigues, 2013).

Nas práticas de fitorremediação, o ideal é que sejam utilizadas plantas com grande habilidade de hiperacumular metais extraídos, tolerância às altas concentrações de metais pesados no solo, além de rápido crescimento e alta produção de biomassa. Sendo assim, uma das etapas mais importantes é a escolha das espécies fitorremediadoras, uma vez que espécies vegetais diferentes apresentam comportamento distinto em resposta à contaminação de solos com metais pesados.

A técnica de cultura de tecidos vegetais surge então como um importante instrumento de investigação no estudo da sensibilidade e/ou tolerância de plantas à contaminantes ambientais, uma vez que permite inferir e medir a influência de fatores que influenciam o crescimento das plantas

VIII Semana de Ciência e Tecnologia – IFMG *campus* Bambuí
I Seminário dos Estudantes de Pós-Graduação

tais como fitorreguladores, temperatura, umidade e sais, dentre eles os metais pesados. Segundo Doran (2009), dentre as vantagens destacam-se o crescimento em condições axênicas – livres de contaminação; ausência de bactérias endofíticas – que poderiam influenciar a capacidade vegetal em degradar compostos xenobióticos; utilização de material vegetal derivado de uma mesma planta – o que evita os efeitos causados pela variabilidade genética entre indivíduos; além do grande número de plântulas regeneradas em um curto período de tempo – o que garante maior agilidade na obtenção dos resultados. Além disso, pesquisas avaliando a resposta, *in vitro*, de diversas plantas a concentrações tóxicas de metais pesados com o zinco, chumbo e níquel têm se mostrado promissoras para determinação do potencial hiperacumulador de várias espécies vegetais (Ben Ghnaya et al., 2007; Buendía-González et al., 2010; Santos, 2012). Tais estudos são importantes para se prever a possível resposta de espécies vegetais em ambientes contaminados, e assim reduzir custos com os convencionais experimentos de campo.

Dessa forma, o objetivo do presente trabalho será avaliar o crescimento *in vitro* das espécies vegetais *Chrysopogon zizanioides* (capim vetiver) e *Cymbopogon winterianus* (capim citronela) quando expostas a concentrações crescentes de metais pesados, a fim de se determinar sua tolerância a esses elementos.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Ensaios experimentais

1.1. Estabelecimento *in vitro*

Os ensaios de teste de concentrações de metais pesados aplicados às plantas de capim vetiver e capim citronela serão conduzidos no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais e Biotecnologia (Labiotec), do Departamento de Ciências Agrárias, IFMG – *campus* Bambuí. Inicialmente as espécies vegetais *Chrysopogon zizanioides* (capim vetiver) e *Cymbopogon winterianus* (capim citronela) serão estabelecidas, *in vitro*, em meio MS (Murashige e Skoog, 1962), a partir de plantas matrizes mantidas em casa de vegetação.

Serão utilizados como explantes, ápices caulinares retirados das plantas matrizes de ambas as espécies. A desinfestação dos explantes será feita através da manutenção em água corrente por 4h. Posteriormente, os explantes serão levados para capela de fluxo laminar e imersos, gradativamente, em solução de etanol 70% por 5 minutos e em solução de hipoclorito de sódio 0,5% durante 30 minutos. Após esse procedimento o material vegetal será lavado com água destilada e autoclavada por três vezes (tríplice lavagem). Após o processo de desinfecção, os explantes serão inoculados em frascos contendo meio de cultura MS (Murashige e Skoog, 1962) acrescido de 2 mg L⁻¹ do fitorregulador 6-benzilamino purina (BAP). Em seguida serão levados para sala de crescimento com temperatura constante de 25 ± 1°C e fotoperíodo de 16 horas.

VIII Semana de Ciência e Tecnologia – IFMG *campus* Bambuí
I Seminário dos Estudantes de Pós-Graduação

As plântulas pré-estabelecidas servirão para a montagem dos ensaios de teste de concentrações de metais pesados.

1.2. Experimento com metais pesados

Os metais pesados para estudo serão definidos em função da sua importância como contaminante e em função da disponibilidade de aquisição. Pretende-se selecionar 2 (dois) metais pesados sob 5 (cinco) concentrações diferentes possibilitando obter uma curva de regressão polinomial para comparação dos resultados.

O meio de cultura será o MS (Murashig e Skoog, 1962) acrescido de 1 mg L⁻¹ de BAP e 2 mg L⁻¹ de ANA (ácido naftaleno acético) visando indução de brotações e enraizamento das microestacas. Os explantes serão segmentos nodais (microestacas) de 1,5 cm retirados de plântulas pré-estabelecidas, *in vitro*. Após a inoculação os frascos serão mantidos em escuro por 7 dias para redução da incidência de oxidação fenólica e posteriormente levados para sala de crescimento com temperatura constante de 25 ± 1°C e fotoperíodo de 16 horas.

O delineamento experimental será em DIC (Delineamento Inteiramente Casualizado) com dois explantes por frasco e dez repetições por tratamento.

Após 30 dias da inoculação, os explantes serão avaliadas a altura de plantas (AP), número de raízes (NR), número de folhas (NF), comprimento de internódios (CI), biomassa seca de raiz (BR), biomassa seca de parte aérea (BSPA), biomassa seca total (BST) e razão raiz/parte aérea (RA/PA).

Os dados obtidos serão analisados por meio de regressão polinomial e será utilizado o software Assistat (Silva e Azevedo, 2009).

RESULTADOS ESPERADOS

Como resultado, espera-se demonstrar que: a técnica de cultivo *in vitro* pode ser utilizada como ferramenta auxiliar importante no estudo de alterações metabólicas de plantas em condições de estresse provocados pela presença de metais pesados; as espécies vegetais *Chrysopogon zizanioides* (capim vetiver) e *Cymbopogon winterianus* (capim citronela) apresentam potencial morfológico e fisiológico para fitorremediação de solos contaminados por metais pesados.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A técnica de cultura de tecidos vegetais pode ser considerada uma ferramenta importante em pesquisas de fitorremediação, uma vez que permite a avaliação, *in vitro*, do comportamento de plantas em presença de xenobióticos.

Espera-se que, tais conhecimentos possam auxiliar outros estudos de identificação e seleção precoce das espécies vegetais mais indicadas para a recuperação de sítios contaminados por poluentes específicos, tais com os metais pesados.

VIII Semana de Ciência e Tecnologia – IFMG *campus* Bambuí
I Seminário dos Estudantes de Pós-Graduação

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BEN GHNAYA, A.; CHARLES, G.; HOURMANT, A.; BEN HAMIDA, J.; BRANCHARD, M. Morphological and physiological characteristics of rapeseed plants regenerated in vitro from thin cell layers in the presence of zinc. *Comptes Rendus – Biologies*, v. 330, n.10, p.728–734, 2007.

BUENDÍA-GONZÁLEZ, L.; ESTRADA-ZÚÑIGA, M.E.; OROZCO-VILLAFUERTE, O.; CRUZ-SOSA, F.; VERNON-CARTER, E. J. *In vitro* lead and nickel accumulation in mesquite (*Prosopis laevigata*) seedlings. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, v.9, n.1, p.1–9, 2010.

BRANCHES, A.M.B.; RODRIGUES, V.M. Análise da fitorremediação como método de recuperação de áreas degradadas pela mineração. In: Congresso Brasileiro de Mina, 2013. Disponível em: <http://www.cbmina.org.br/media/palestra_6/T62.pdf>. Acesso em: 11 nov. 2014.

DORAN, P. M. Application of plant tissue cultures in phytoremediation research: Incentives and limitations. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 103, n. 1, p. 60–76, 2009.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tabacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v. 15, p. 473-497, 1962.

SANTI, A.M.M.; FILHO, A.O.S. Combustíveis e riscos ambientais na fabricação de cimento: casos na Região do Calcário ao norte de Belo Horizonte e possíveis generalizações. In: II Encontro Nacional de Pós-Graduação e Pesquisa em Ambiente e Sociedade – ANPPAS, Campinas, 2004. Disponível em: <http://www.ifch.unicamp.br/profseva/anppas04_SantiSeva_cimento_RMBH.pdf>. Acesso em: 10 jun. 2015.

SANTOS, F. H. S. Crescimento, nutrição e produção “in vitro” de *Gomphrena claussenii* exposta a zinco e cádmio. 2012. Tese (Mestre em Ciências do Solo) – UFLA, Lavras.

SILVA, F. de A. S. e. & AZEVEDO, C. A. V. de. Principal Components Analysis in the Software Assistat-Statistical Attendance. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 7, Reno-NV-USA: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.

VASCONCELLOS, M. C.; PAGLIUSO, D.; SOTOMAIOR, V. S. Fitorremediação: Uma proposta de descontaminação do solo. *Estud. Biol., Ambiente Divers*, v. 34, n. 83, p. 261-267, jul./dez. 2012.