



EFEITOS CLASTOGÊNICOS EM *Tradescantia pallida* cv *purpurea* CULTIVADA EM SOLOS TRATADOS COM LODOS DE DIFERENTES ORIGENS

Renata Delfino Pereira¹

Diliane Harumi Yaguinuma²

Antonio Fluminhan³

RESUMO

A grande quantidade de lodos e sua disposição inadequada no ambiente demandam o estudo de alternativas de tratamento e utilização para outras finalidades, uma vez que a poluição do solo tornou-se um importante problema ambiental devido aos seus efeitos nocivos à saúde humana, aos ecossistemas, à produtividade do solo e ao desenvolvimento socioeconômico. A presente pesquisa tem como objetivo mensurar e analisar as alterações nas propriedades biológicas de *Tradescantia pallida* em resposta ao contato com diferentes tipos de lodos produzidos na região de Presidente Prudente-SP, provenientes das seguintes atividades humanas: processamento de couro bovino a partir de *wet blue*, galvanização, tratamento de esgoto urbano e produção de alimentos/bebidas. Após o contato destes diferentes tipos de lodos com as amostras de solo, foram plantadas mudas de *Tradescantia pallida* cv *purpurea*. Os efeitos destes resíduos em contato com o solo foram avaliados quanto à ocorrência de alterações genéticas em *Tradescantia pallida*, segundo o método Trad-MCN. Os resultados obtidos mostraram que o lodo de esgoto pode ser uma alternativa interessante, do ponto de vista ambiental e socioeconômico, para a reciclagem agrícola, provocando modificações significativas do crescimento e desenvolvimento vegetal. Entretanto, os impactos ambientais provocados pelos outros tipos de lodos avaliados na presente pesquisa podem ser considerados inadequados para uma eventual utilização agrícola dos mesmos.

Palavras-chave: Lodos - Reciclagem agrícola - Monitoramento ambiental – Impactos ambientais - *Tradescantia pallida* cv *purpurea* – Trad MCN

¹ Mestranda em Meio Ambiente e Desenvolvimento Regional, Universidade do Oeste Paulista - UNOESTE. rdprenata@hotmail.com

² Graduanda de Ciências Biológicas - Bacharelado, Universidade do Oeste Paulista - UNOESTE. harumi@hotmail.com

³ Professor – Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-graduação, Universidade do Oeste Paulista - UNOESTE. fluminhan@unoeste.br



EFFECTS IN TRADESCANTIA PALLIDA CV CLASTOGENIC PURPUREA GROWN IN SOIL TREATED WITH SLUDGEDIFFERENT ORIGINS

ABSTRACT

The large amount of sludge and its improper disposal into the environment require the study of treatment alternatives and use for other purposes, since the soil pollution has become an important environmental problem due to its harmful effects to human health, ecosystems, the soil productivity and socioeconomic development. This research aims to measure and analyze the changes in the biological properties of Tradescantia pallida in response to contact with different types of sludge produced in the region of Presidente Prudente-SP from the following human activities: bovine leather processing from wet blue, galvanizing, urban sewage treatment and production of food / drinks. After contacting these different types of sludge with the soil samples, seedlings of Tradescantia pallida cv purpurea were cultivated. The effects of these kinds of sludge in contact with the soil were evaluated for the occurrence of genetic changes in Tradescantia pallida, according to the Trad-MCN method. The results confirmed the use of sludge originated from human waste as an interesting alternative from the standpoint of environmental and socioeconomic aspects for agricultural recycling, since it caused significant changes in plant development and growth. However, the environmental impacts caused by the remaining types of solid waste evaluated in this research might be considered inadequate for an eventual agricultural utilization.

Keywords: Sludge - Agricultural recycling - Environmental monitoring - Environmental impacts - Tradescantia pallida cv purpurea - Trad MCN

EFFECTOS EN TRADESCANTIA PALLIDA CLASTOGENICO CV PURPUREA CRECEN EN SUELOS TRATADOS CON LADOS ORIGENES DISTINTOS

RESUMEN

Una gran cantidad de lodos y su incorrecta eliminación en el medio ambiente requieren el estudio de tratamiento alternativo y utilizan para otros fines, ya que la contaminación del suelo se ha convertido en un grave problema ambiental debido a sus efectos nocivos sobre la salud humana, los ecosistemas, en la productividad del suelo y el desarrollo socioeconómico. Esta investigación tiene como objetivo medir y analizar los cambios en las propiedades biológicas de Tradescantia pallida en respuesta al contacto con diferentes tipos de lodos producidos en la región de



Presidente Prudente, SP, de las siguientes actividades humanas: el procesamiento de cuero bovino de wet blue tratamiento galvánico de las aguas residuales urbanas y la producción de alimentos / bebidas. Después de ponerse en contacto con estos diferentes tipos de lodos con las muestras de suelo, Tradescantia pallida purpurea plántulas se plantaron cv. Se evaluaron los efectos de estos residuos en contacto con el suelo para la ocurrencia de cambios genéticos en Tradescantia pallida, de acuerdo con el método Trad-MCN. Los resultados mostraron que el lodo de aguas residuales puede ser una alternativa interesante desde el recursos ambientales y socioeconómicos, para el reciclaje agrícola, causando cambios significativos en el crecimiento y desarrollo de la planta. Sin embargo, los impactos ambientales causados por otros tipos de lodos evaluado en este estudio pueden ser considerados no aptos para cualquier uso agrícola de ellos.

Palabras-clave: Lodos - Reciclaje agrícola - Monitoreo ambiental - Impactos ambientales - Tradescantia pallida cv purpurea - Trad MCN

1 INTRODUÇÃO

A poluição do solo tem sua origem na disposição inadequada dos mais variados tipos de resíduos gerados pelas atividades antrópicas, principalmente os que estão em fase sólida, por serem gerados em maior quantidade e possuírem baixa mobilidade no ambiente. Devido à diversidade de origens e características, os resíduos provenientes da decantação de efluentes domésticos e industriais, também denominados 'biosólidos' ou, simplesmente, 'lodos', possuem composição variada, podendo conter grandes quantidades de matéria orgânica, metais pesados e patógenos.

Para fins de indicação e reflexão das mudanças no ambiente causadas pelos componentes dos lodos, são utilizados organismos bioindicadores. Microrganismos, animais ou vegetais, os bioindicadores respondem a alterações no ambiente por meio de reações comportamentais ou metabólicas que podem ser mensuradas e analisadas. A *Tradescantia* é uma planta de adaptação a uma grande multiplicidade de ambientes e pode se desenvolver durante o ano todo, ao ar livre ou em casas de vegetação. O porte pequeno e o genoma simples tornaram essa planta um instrumento favorável para estudos de biomonitoramento.



A reciclagem agrícola dos lodos de esgoto ou provenientes do tratamento de efluentes industriais apresenta-se como uma alternativa para redução da pressão sobre a exploração dos recursos naturais e como forma de evitar destinações finais que envolvam custos mais elevados e com maior impacto no ambiente e na população.

O objetivo desta pesquisa foi a análise de alterações nas propriedades biológicas de *Tradescantia pallida*, evidenciadas pela formação de micronúcleos em células formadoras de gametas, como consequência do contato com diferentes tipos de lodos produzidos na cidade de Presidente Prudente – SP.

2. REVISÃO DA LITERATURA

Os lodos são subprodutos sólidos ou semi-sólidos do tratamento de efluentes e esgotos. A composição dos lodos é tão variada quanto sua origem. O lodo de esgoto possui aproximadamente 95% de água, biomassa, nitrogênio, fósforo, macro e micronutrientes (VON SPERLING, 2005), além de agentes patogênicos, cujas presenças são reflexos diretos do perfil de saúde da população contribuinte do sistema, e elementos tóxicos provenientes de regiões industrializadas (ANDREOLI et al., 1997; BETTIOL & CAMARGO, 2006). Os lodos de atividades de curtimento de couro possuem em sua composição quantidades significativas de matéria orgânica, sulfetos, metais (principalmente o cromo), sódio, fósforo, nitrogênio e potássio (KONRAD & CASTILHOS, 2002; MARTINES, 2005). O tratamento dos efluentes do processo de galvanização normalmente é realizado por processos em sistemas físico-químicos que geram grande quantidade de lodo, classificado como resíduo perigoso, de acordo com a NBR 10.004 da ABNT. Este lodo galvânico é rico em metais, tais como cromo, níquel, zinco, cobre, ferro e cádmio (COLARES et al., 2010). O lodo residual das indústrias farmacêuticas possui, além de nitrogênio, fósforo e carbono, microrganismos patogênicos e ovos de helmintos (FRANCO HERNANDEZ et al., 2000). O processo de tratamento de



efluentes líquidos da indústria têxtil gera um lodo de características orgânicas com concentrações significativas de sódio e potássio (PRADO & NATALE, 2005).

A reciclagem agrícola destes resíduos pressupõe o conhecimento da composição química do lodo, das características do solo e da dinâmica dos nutrientes após aplicação no solo, de forma a obter os benefícios agrônômicos esperados, evitando os impactos ambientais negativos ao meio biótico e abiótico (BETTIOL & CAMARGO, 2006).

2.1 Alternativas para a reciclagem de lodos

As alternativas mais usuais para o aproveitamento ou disposição final dos lodos residuais são: disposição em aterro sanitário, reuso industrial, incineração, conversão em óleo combustível, recuperação de solos, *landfarming* e uso agrícola e florestal. Entre as diversas alternativas, as de uso agrícola e florestal apresentam-se como as mais convenientes, pois a presença de matéria orgânica e/ou macro e micronutrientes viabiliza o uso como condicionador do solo e fertilizante (BETTIOL & CAMARGO, 2006).

As pesquisas realizadas com resíduos gerados pela indústria de papel e celulose mostram grande potencial de uso destes resíduos para o aumento da produtividade do eucalipto (*Eucalyptus grandis*) como consequência da melhoria das características físicas, químicas e biológica dos solos (BELLOTE et al., 1998). Franco Hernández et al. (2000), em estudo sobre o reuso de lodo residual das indústrias farmacêuticas, concluíram que a adição de lodo não afeta a biomassa edáfica e aumenta as concentrações de nitrogênio, podendo servir como prática de fertilização de solos florestais. O uso de biossólido de indústrias de fibras e resina PET (polietileno tereftalato) melhora a fertilidade do solo, o estado nutricional e a produtividade do milho e os teores de nutrientes, sódio e metais pesados não provocam fitotoxicidade nesta planta (TRANNIN et al., 2005). Em pesquisa sobre o efeito da adubação com lodo de esgoto submetido a diferentes processos de higienização sobre os teores de metais no solo e em grãos de milho e feijão caupi



consorciados, Nogueira et al. (2007) concluíram que não houve influência dos tipos de lodo de esgoto em relação aos teores de metais em grãos de milho e feijão, assim como Rangel et al. (2006) avaliaram que os teores de magnésio, níquel, chumbo e zinco não provocaram toxicidade em folhas e grãos de milho adubados com lodos de esgoto. Em avaliação do crescimento de plantas de milho (*Zea mays*) em presença de lodos de curtume, Konrad e Castilhos (2002) concluíram que os rendimentos de milho nestas condições foram semelhantes aos obtidos com adubação mineral + calagem.

As alterações benéficas nas características físicas (formação de agregados, aumento da resistência à erosão, aumento da capacidade de retenção de água), químicas (retenção de nutrientes) e biológicas (fornecimento de nutrientes para a flora e fauna) do solo, o aumento da produtividade agrícola e os consequentes benefícios socioeconômicos tornam a reciclagem agrícola a prática mais adequada dentre as formas de disposição final dos lodos residuais. Os impactos negativos desta prática estão relacionados com a possível contaminação por metais pesados e patógenos e com a não aceitação dos produtos cultivados com resíduos por parte dos agricultores e da sociedade (ANDREOLI et al., 1997).

2.2 Contaminação dos solos por agentes mutagênicos

O solo, por suas características físicas, químicas e biológicas, é um atraente meio para depuração dos lodos residuais. A eficiência do solo em depurar resíduos está relacionada à sua grande biodiversidade. Entretanto, além da matéria orgânica, os resíduos carregam elementos prejudiciais ao solo, tanto pela sua característica química, como pela quantidade adicionada (BELLOTE et al., 1998).

Embora o uso dos lodos de esgoto e industriais no solo agrícola possa ser interessante por seu conteúdo em materiais orgânicos e nutrientes, a presença de metais pode tornar-se motivo de preocupação em função da mobilidade e consequente contaminação de camadas subsuperficiais do solo e águas subterrâneas (BERTONCINI & MATTIAZZO, 1999).



Prado & Natale (2005) quantificaram os efeitos da aplicação de lodo de esgoto ao solo sobre o desenvolvimento inicial do maracujazeiro (*Passiflora edulis*) e concluíram que em doses maiores que 10 t ha^{-1} , a aplicação do lodo provocou morte das plantas pela presença de metais e pelo efeito salino provocado por íons de sódio e potássio. Em pesquisa sobre a avaliação do crescimento e acúmulo do cromo em alface (*Lactuca sativa*) cultivada em solos tratados com resíduos de curtume, Aquino Neto e Camargo (2000) apontaram que o maior impacto resultante da aplicação dos resíduos no solo foi a elevação acentuada da condutividade elétrica e da razão de adsorção de sódio a valores considerados prejudiciais à utilização agrícola. Brossi et al. (2008), em aplicação do sistema-teste com cebola (*Allium cepa*) em amostras de solo tratadas com lodo de esgoto, confirmaram o potencial mutagênico e genotóxico nestas plantas a partir de testes de aberrações cromossômicas e micronúcleos.

Sendo assim, a disposição deste material residual representa um problema complexo, que pode ter reflexos negativos sobre o solo, a água, a fauna, a flora e a saúde humana. A operação adequada e o monitoramento constante são essenciais a qualquer prática de uso ou disposição final de lodo para se evitar potenciais impactos ambientais negativos (ANDREOLI, 2001).

2.3 A *Tradescantia* como bioindicadora em solos tratados com lodos de diferentes origens

Bioindicadores são organismos que, por sua própria presença ou ausência em determinados ambientes, ou pela sua resposta a determinados estímulos, indicam a existência ou abundância de um determinado fator crítico. Todos os organismos apresentam uma tolerância definida a um estímulo ambiental (natural ou antropogênico) e podem existir em localizações específicas apenas nesta zona de tolerância (PHILLIPS & RAINBOW, 1994). Desta forma, os processos antrópicos que interferem na diversidade genética de organismos ou alteram a microbiota edáfica podem contribuir para a degradação da qualidade do solo e o uso de bioindicadores



mostra-se como uma ferramenta importante na avaliação desta degradação (LAMBAIS et al., 2005).

Os bioindicadores devem possuir relevância biológica para informar sobre a possível contaminação do ambiente no qual estão inseridos. Entre os fatores que caracterizam esta relevância, um dos mais importantes é a posição trófica. Quanto mais baixo for seu nível trófico, maior é a relevância biológica do organismo como bioindicador, pois a sua contaminação pode comprometer toda a cadeia (ANDRÉA, 2008).

Entre os testes realizados em eucariotos para avaliação dos efeitos mutagênicos, destacam-se o ensaio do cometa, o teste de aberrações cromossômicas e o teste de micronúcleos com o emprego da planta bioindicadora *Tradescantia* (Trad-MCN). A *Tradescantia* é uma planta de fácil adaptação a qualquer ambiente, podendo se desenvolver tanto ao ar livre (em regiões subtropicais) quanto em estufas, durante o ano todo. O porte pequeno e o genoma composto por seis pares de cromossomos tornaram-na um instrumento favorável para estudos citogenéticos (CARVALHO, 2005).

O bioensaio Trad-MCN foi utilizado pela primeira vez por Ma (1981), Ma (1983); e Ma et al. (1994) e a base para o seu desenvolvimento foi o fato de que os agentes mutagênicos podem provocar a formação de fragmentos acêntricos dos cromossomos, os quais se transformam em micronúcleos na fase de tétrade da meiose, sendo facilmente identificados por microscopia óptica (CARVALHO, 2005).

Gill & Sandhu (1992) avaliaram a genotoxicidade do dieldrin, tetraacetato de chumbo e trióxido de arsênio, e suas combinações, utilizando o bioensaio de micronúcleo em *Tradescantia*. Os experimentos foram realizados em plantas cultivadas em solos misturados com os contaminantes e em hastes florais em extratos aquosos. Segundo os autores, as 3 substâncias produziram respostas clastogênicas quando testadas em solo.

A investigação da correlação entre os efeitos genotóxicos e a mudança de parâmetros microbiológicos causados pela contaminação do solo por metais também pode ser avaliada por testes em *Tradescantia*. Majer et al. (2002)



concluíram que o bioensaio Trad-MCN é adequado para a detecção dos efeitos genotóxico da contaminação do solo por metais e que o potencial de danos ao DNA em solos de diferentes origens não pode ser previsto somente com base nas análises químicas da concentração destes metais.

Steinkellner et al. (1998) avaliaram o efeito genotóxico de metais em solos utilizando ensaios de micronúcleo em *Tradescantia* e em células da raiz de *Allium cepa* e *Vicia faba*. Em concordância com outros estudos, os testes produziram melhores respostas em amostras de solo do que em extratos aquosos. Os resultados indicam que o bioensaio Trad-MCN detecta os efeitos genotóxicos de metais pesados e pode ser usado para biomonitoramento de solos contaminados.

Mielli (2008) comparou a resposta de plantas de *Tradescantia pallida* e do clone 4430 em contato com extratos aquosos de lodo de esgoto e com lodo de esgoto incorporado ao solo, utilizando o bioensaio Trad-MCN, e concluiu que o método que expõe plantas enraizadas em solo com lodo é mais sensível.

Ainda segundo Mielli (2008), não havia na literatura pesquisas similares em *Tradescantia pallida* com lodo de esgoto, somente com solos contaminados (GILL & SANDHU, 1992; STEINKELLNER et al., 1998) e este fato justifica o presente estudo sobre os efeitos clastogênicos em plantas de *Tradescantia* em contato com solos tratados com lodos de diversas origens.

3. OBJETIVOS

Esta pesquisa teve por objetivos analisar as alterações em características biológicas de *Tradescantia pallida cv purpurea* em resposta ao cultivo em solos tratados com diferentes tipos de lodos produzidos na cidade de Presidente Prudente (SP). Foram avaliadas as alterações cromossômicas causadas por lodos provenientes das atividades humanas: processamento de couro bovino a partir de *wet blue*, galvanização, tratamento de esgoto urbano e produção de alimentos (frigorífico). Para tanto, foram verificados os danos genéticos através da análise da



frequência de formação de micronúcleos em células mãe de grão de pólen de *Tradescantia pallida cv purpurea*, através da metodologia de bioensaio Trad-MCN.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais biológicos

Plantas adultas de *Tradescantia pallida cv purpurea* foram coletadas de um canteiro ornamental localizado no Campus II da Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), cujas coordenadas são: latitude 22°07'15,61" S, longitude 51°26'37,73" O e altitude 396m. O local foi escolhido devido a algumas características, tais como a presença de sombra, ausência de tráfego veicular intenso e quantidade suficiente de material biológico. As plantas coletadas (Figura 1) possuíam as seguintes características: 15 cm de altura, 4 folhas e ausência de inflorescências.



Figura 1 – A espécie *Tradescantia pallida cv purpurea*, com detalhe para a inflorescência (dir.). Fonte: A autora.

4.2 Amostras de Solo



O solo foi coletado na Fazenda Experimental da UNOESTE, localizada no município de Presidente Bernardes-SP nas seguintes coordenadas: latitude 22°17'13,93" S e longitude 51°41'01,08" O. Este solo é classificado como latossolo vermelho eutrófico de textura arenosa (SANTOS et al., 2006). Parte desta amostra foi submetida ao Laboratório de Análise de Solos do Campus II da UNOESTE para análise de pH, e dos nutrientes Fósforo (P), Enxofre (S), Potássio (K), Cálcio (Ca) e Magnésio (Mg) e dos metais Cromo (Cr), Zinco (Zn), Chumbo (Pb), Níquel (Ni), Cobre (Cu), Ferro (Fe) e Manganês (Mn). Os resultados destas análises estão apresentados na Tabela 1 e este solo foi considerado o tratamento controle.

Tabela 1 – Características químicas do solo considerado tratamento controle

pH	Nutrientes					Metais						
	P	S	K	Ca	Mg	Cr	Zn	Pb	Ni	Cu	Fe	Mn
	mg dm ⁻³		mmol _c dm ⁻³			mg dm ⁻³						
5,2	1,30	6,10	1,00	2,30	1,30	0,01	0,10	0,01	0,01	0,10	4,40	1,90

Fonte: Laboratório de Análise de Solos da UNOESTE. Metodologia: Camargo et al. (2009).

4.3 Amostras de Lodo

As amostras de lodo foram coletadas em quatro locais do município de Presidente Prudente-SP. A amostra L_A foi coletada em um frigorífico que realiza abates de bovinos e que possui tratamento dos efluentes em lagoas biológicas. A amostra L_C foi obtida em uma indústria de processamento de couro bovino a partir de *wet blue*, ou seja, a indústria já recebe o couro curtido e realiza o processo de tingimento e acabamento final, e o tratamento de efluentes ocorre por processos físico-químicos. A amostra L_E foi coletada numa Estação de Tratamento de Esgotos que trata o esgoto urbano das cidades de Presidente Prudente-SP e Álvares Machado-SP pelo processo de lodos ativados. Coletou-se a amostra L_G em uma indústria de galvanização que realiza o processo de zincagem em peças metálicas e cujo lodo é obtido através de processos físico-químicos de tratamento de efluentes.



As amostras foram coletadas em recipientes apropriados e, após a secagem realizada a sol, a homogeneização teve como objetivo deixar as amostras pulverizadas. Posteriormente, foram realizadas análises dos nutrientes Nitrogênio (N), Fósforo (P), Potássio (K), Enxofre (S), Cálcio (Ca) e Magnésio (Mg) e dos metais Cromo (Cr), Zinco (Zn), Chumbo (Pb), Níquel (Ni), Cobre (Cu), Ferro (Fe) e Manganês (Mn) no Laboratório de Análise de Solos do Campus II da UNOESTE. Os resultados das análises de nutrientes e metais estão apresentados nas Tabelas 2 e 3, respectivamente.

Tabela 2 – Análise química dos nutrientes presentes nas amostras de resíduos

Elementos (g kg ⁻¹)	Amostras			
	L _A	L _C	L _E	L _G
Nitrogênio	29,5	19,4	35,9	5,2
Fósforo	16,13	4,83	6,8	0,24
Potássio	3,4	2,1	4,0	1,8
Enxofre	5,4	15,4	4,0	19,4
Cálcio	41,2	66,3	169,1	203,3
Magnésio	1,7	8,5	3,1	62,2

Fonte: Laboratório de Análise de Solos da UNOESTE. Metodologia: Camargo et al. (2009).

Tabela 3 – Análise química dos metais presentes nas amostras de resíduos

Elementos (mg kg ⁻¹)	Amostras			
	L _A	L _C	L _E	L _G
Cromo	387,3	3.246,0	553,8	1.240,9
Zinco	542,9	620,9	366,5	9.843,0
Chumbo	10,0	10,0	10,0	10,0
Níquel	48,37	70,8	98,2	76,5
Cobre	74,3	154,2	141,1	45,0
Ferro	3.849,0	2.785,8	3.828,9	3.928,1
Manganês	540,8	130,4	109,1	116,7

Fonte: Laboratório de Análise de Solos da UNOESTE. Metodologia: Camargo et al. (2009).



4.4 Tratamentos experimentais e cultivo das plantas

O grupo experimental foi composto por cinco tratamentos: L_A, L_C, L_E, L_G e um controle, com seis vasos cada uma, totalizando trinta vasos, sendo cada vaso considerado uma repetição e que cada um contendo dez plantas de *Tradescantia pallida cv purpurea*. Os vasos possuem 0,3 m de altura, 0,3 m de diâmetro e capacidade de 15 l. Foram aplicados 70 g de lodo na camada superficial de 10 cm de solo em cada vaso e incorporados com o auxílio de instrumento de jardinagem. Após 90 dias de crescimento, dos seis vasos com aplicação de 70 g de lodo foram escolhidos dois, ao acaso, para receberem uma parcela adicional de 70 g de lodo, ficando, então, com 140 g de lodo incorporados ao solo. Esta suplementação tornou a dosagem final equivalente a 20 Mg.ha⁻¹ e teve o objetivo de induzir possíveis efeitos cumulativos e consequentes danos genéticos nas plantas cultivadas. Após o plantio de todas as mudas, cada vaso foi regado com 500 ml de água, em periodicidade diária. As coletas de inflorescências ocorreram, primeiramente, após 30 dias de crescimento e, posteriormente, após 90 dias de crescimento.

4.5 Coleta de inflorescências e preparo de lâminas citológicas

Foi avaliada a mutagenicidade potencial provocada pelos diferentes tratamentos através da análise dos danos genéticos provocados pelos diferentes tratamentos, detectáveis através do método Trad-MCN, conforme descrito nos trabalhos pioneiros de Ma (1981) e Ma (1983) e Ma et al. (1994).

As coletas de inflorescências foram realizadas após 30 dias de crescimento das plantas, em todas as plantas que desenvolveram inflorescências. Foram coletados botões florais de *Tradescantia pallida cv purpurea* no estágio adequado de desenvolvimento, ainda jovens, e removidas as inflorescências com pinça, introduzindo-as imediatamente em solução fixadora de Carnoy (álcool etílico 3:1



ácido acético v/v) preparada recentemente. O tempo de fixação mínimo é de 18 horas e máximo de 24 horas. Após o período de fixação, as inflorescências foram transferidas para álcool etílico 70% (temperatura ambiente) e mantidas em geladeira, a 4°C. No momento do preparo das lâminas, o material foi retirado previamente da geladeira e mantido em temperatura ambiente, as inflorescências foram retiradas do álcool etílico 70% e colocadas em ácido acético 45% para maceração acética. As flores foram separadas com ajuda de pinça e bisturi, selecionando apenas as que continham anteras com células-mãe de grão de pólen em estágio de tétrades. As anteras foram abertas com ajuda de bisturi e pinça sobre lâmina contendo gotas de solução de Carmim acético a 0,5%. As anteras assim obtidas foram maceradas com bastão de vidro. Após a maceração, a lâmina é coberta com lamínula e rapidamente aquecida e analisada em microscopia óptica sob aumento de 400x. Um total de 300 tétrades por lâmina foi analisado, sendo confeccionadas cinco lâminas por ponto amostral em cada mês. As frequências de micronúcleos foram registradas em cada lâmina (número de micronúcleos em 300 tétrades) e expressas em termos de MN/100 tétrades.

5. RESULTADOS

As análises citogenéticas envolveram um total de 2 a 4 lâminas microscópicas para cada tratamento avaliado, sendo observadas cerca de 100 a 340 tétrades em cada lâmina. Das 25 inflorescências coletadas foram observadas, aleatoriamente, 300 tétrades, e anotados a frequência de micronúcleos e o número de micronúcleos nas tétrades que sofreram mutação. Apenas os vasos com amostras de lodo de ETE e lodo de indústria alimentícia apresentaram plantas com desenvolvimento de inflorescências, tanto com adição de 70 g de lodo quanto com adição de 140 g de lodo. Desta forma, houve somente 3 amostras de inflorescências: L_E com 70 g de lodo, L_E com 140 g de lodo e L_A com 140 g de lodo.



Os resultados obtidos a partir da análise da frequência de formação de micronúcleos em tétrades de inflorescências de *Tradescantia* cultivadas nos diferentes tratamentos avaliados são apresentados na Tabela 3, mostrada a seguir.

Tabela 3 – Presença de micronúcleos em tétrades de plantas de *Tradescantia pallida* cv *purpurea* cultivadas em solos tratados com lodos de diferentes origens.

Tratamento (*)	Tétrades normais	Tétrades com MCN	Total de Tétrades	% de Tétrades com MCN	Número de MCN	Número médio MCN /Tétrade anormal
L _E (70 g)	288	12	300	4,00 ^b	15	1,25 ^b
L _E (140 g)	285	15	300	5,00 ^a	21	1,40 ^c
L _A (70 g)	293	07	300	2,33 ^c	08	1,14 ^a
Total	866	34	900	3,77 ^b	44	1,29 ^b

Fonte: Os autores

Obs: (*) L_E = lodo de Estação de Tratamento de Esgoto; L_A = lodo de indústria alimentícia (frigorífico).

(**) Médias abrangidas pela mesma letra não diferem, pelo teste de Tukey. ao nível de probabilidade $p < 0,05$

Na Figura 2 (A e B) são apresentadas as imagens de fotomicroscopia de duas tétrades exibindo a presença de micronúcleos, e que foram observadas durante as análises. Foram verificadas maiores frequências de micronúcleos nas amostras provenientes do tratamento com lodo de esgoto (L_E), tanto na aplicação de 70g quanto na aplicação de 140g de lodo. Na amostra L_E com 70g de lodo, houve



frequência de 4% de micronúcleos e na amostra L_E com 140g de lodo a frequência de micronúcleos foi de 5%, com presença de uma tétrede com 4 micronúcleos.

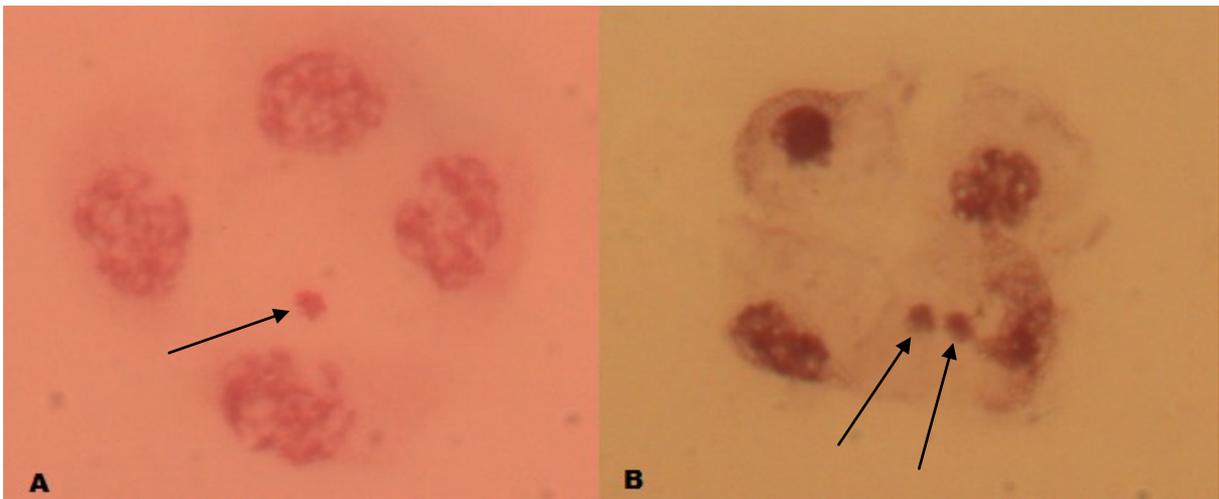


Figura 2 – Tétrades com presença de 1 micronúcleo (A) e 2 micronúcleos (B) indicados pelas setas. Fonte: Os autores.

Quanto à amostra proveniente de tratamento com lodo de indústria alimentícia (L_A), a frequência de micronúcleos observada foi de 2,3%, estando significativamente abaixo dos valores encontrados para a amostra L_E , que variaram de 4,0% a 5,0%, respectivamente para os tratamentos com 70g/vaso e 140 g/vaso.

6. DISCUSSÃO

Devido à diversidade de origens e características, os lodos utilizados no presente estudo apresentaram variações em suas composições. Tais variações provocaram alterações das características do solo e do desenvolvimento das mudas de espécie bioindicadora. Foram observadas alterações no desenvolvimento das plantas, tanto no solo controle quanto nos solos tratados com os tipos de lodos.

Foram detectadas as presenças de micronúcleos em tétrades de inflorescência coletadas de plantas tratadas com dois tipos de lodos: L_E (da Estação



de Tratamento de Esgoto - ETE) e L_A (oriundo do frigorífico – indústria alimentícia). Em ambos os casos, as plantas apresentaram um desenvolvimento superior em relação às plantas cultivadas submetidas aos demais tratamentos. Presumivelmente, este melhor desenvolvimento deve ter sido consequência dos elevados níveis de Nitrogênio que ambos tipos de lodos apresentavam. Além disto, o tratamento com cal virgem (CaO) dado ao lodo de esgoto na Estação de Tratamento de Esgotos (ETE) aumentou os níveis de Ca deste lodo e, conseqüentemente, podem ter sido uma outro fator que influenciou o melhor desenvolvimento vegetal das plantas tratadas com este resíduo. Entretanto, nas análises de micronúcleos observou-se que a dose adicional de 70 g deste lodo foi capaz de induzir danos genéticos mais severos nas células-mãe de grãos de pólen, evidenciados pela presença de células com 3 e até 4 micronúcleos. Ressalta-se que a frequência de tétrades com aberrações, entretanto, não sofreu alterações significativas.

Brito e Tarifa (2010), analisando a presença de micronúcleos em tétrades de *Tradescantia pallida* em condições de sombreamento e baixa poluição atmosférica, encontraram valores de frequência de tétrades com a presença de micronúcleos em torno de 3,9 a 5,5%. As frequências de anormalidades encontradas na presente pesquisa, que variaram de 2,3 a 5%, podem ser consideradas próximas destes resultados, supondo-se que a espécie utilizada pode possuir mecanismos de tolerância capazes de diminuir a toxicidade dos metais.

A ocorrência de danos aos cromossomos pode ocorrer a partir de determinado nível de acúmulo, o que foi pretendido com a adição de uma parcela extra de 70 g de lodos nos vasos de cada tratamento. Entretanto, os efeitos clastogênicos dos metais presentes nos lodos podem ter sido mascarados pela influência dos fatores climáticos, como umidade relativa do ar, temperaturas elevadas e regime pluviométrico, recomenda-se que os experimentos sejam realizados por períodos mais longos e que sejam realizadas mais coletas de inflorescências ao longo do tempo.

A espécie não se adaptou bem ao solo controle, apresentando diminuição de altura da planta, reduzido número de folhas, diminuto sistema radicular e, finalmente,



ausência de inflorescências para utilização nos testes de avaliação de micronúcleos. Optou-se por não corrigir essa situação com adubação química para que os impactos positivos e negativos da aplicação de lodo no solo pudessem ser observados, mas recomenda-se a comparação entre a adubação química convencional e o tratamento com resíduos, principalmente para a coleta de inflorescências e comparação dos resultados das análises de micronúcleos.

As alterações morfológicas vegetais usualmente citadas pela literatura, decorrentes da presença de metais no solo de cultivo das plantas, foram comprovadamente observadas nas mudas que cresceram em solo tratado com os lodos provenientes da indústria de processamento de couro bovino e da indústria de galvanização (PEREIRA et al., em preparação). A indústria de processamento de couro bovino possui lodo com presença de elevados teores de Cr, consequentes dos processos prévios de curtimento de couro. A presença de outros elementos tóxicos pode ter ocorrido devido aos tratamentos com corantes e produtos químicos utilizados no processo de acabamento do couro para venda no mercado interno e exportação. A indústria de galvanização de onde foi coletada a amostra de lodo realiza o processo de zincagem das peças metálicas, o que explica os altos teores de Zn da amostra, além da presença de outros metais presentes nos banhos metálicos que as peças recebem ao longo do processo industrial.

7. CONCLUSÕES

As análises estatísticas mostraram que houve influência dos tratamentos realizados sobre a frequência de formação de micronúcleos em tétrades das plantas cultivadas nos diferentes tratamentos. Foi notado que amostras de lodos provenientes da ETE e da indústria alimentícia causaram modificações significativas do crescimento e desenvolvimento vegetal, este resultado é concordante com as pesquisas recentes que sugerem o uso do lodo de esgoto como auxiliar no melhoramento de solos. A aplicação de lodo de esgoto de forma cumulativa



provocou uma elevação da frequência de efeitos mutagênicos, evidenciados pela elevação na presença de micronúcleos nas células-mãe de grãos de pólen.

É importante ressaltar a necessidade do manejo adequado dos resíduos industriais, pois a presença de metais pode causar impactos ambientais no solo e nas águas superficiais e subterrâneas. Sugere-se que outras pesquisas sejam realizadas com a *Tradescantia pallida cv purpurea*, durante períodos de tempo mais longos, para que sejam observados os efeitos sazonais sobre este bioindicador.

REFERÊNCIAS

ANDRÉA, M. M. **Bioindicadores ecotoxicológicos de agrotóxicos**. São Paulo: Instituto Biológico do Estado de São Paulo, 2008. Disponível em:

<http://www.biologico.sp.gov.br/artigos_ok.php?id_artigo=83>. Acesso em: 20 maio 2012.

ANDREOLI, C. V. et al. **Proposição de plano de monitoramento da reciclagem agrícola do lodo de esgoto no Estado do Paraná**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL. 19., 1997, Foz do Iguaçu. **Anais eletrônico...** Foz do Iguaçu: [s.n.], 1997. Disponível em: <<http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/abes97/plano.pdf>>. Acesso em: 20 maio 2012.

ANDREOLI, C. V. **Lodo de esgotos: tratamento e disposição final**. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – UFMG, Companhia de Saneamento do Paraná, 2001.

AQUINO NETO, V. & CAMARGO, O. A. Avaliação do crescimento e acúmulo de crômio em alface cultivada em dois latossolos tratados com CrCl_3 e resíduos de curtume. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 24, n. 1, p. 225-235, 2000.

BELLOTE, A. F. J. et al. Resíduos da indústria de celulose em plantios florestais. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n. 37, p. 99-106, 1998.

BERTONCINI, E. I. & MATTIAZZO, M. E. Lixiviação de metais pesados em solos tratados com lodo de esgoto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 23, p. 737-744, 1999. Disponível em: <<http://sbcs.solos.ufv.br/solos/revistas/v23n3a29.pdf>>. Acesso em: 20 maio 2012.

BETTIOL, W. & CAMARGO, O. A. A disposição do lodo de esgoto em solo agrícola. In: EMBRAPA MEIO AMBIENTE, **Lodo de esgoto: impactos ambientais na agricultura**. Jaguariúna: Embrapa, 2006.

BRITO, L. G. L.; TARIFA, A. P. V. **Biomonitoramento ambiental dos danos genéticos provocados por radiação solar e poluição aérea urbana no município de Pres. Prudente (SP) através da análise de micronúcleos em tétrades de *Tradescantia pallida* (Rose) Hunt cv *Purpurea***. 2010. Monografia (Graduação) – Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente.



BROSSI, M. J. L. et al. Utilização do sistema teste de *Allium cepa* para avaliação genotóxica e mutagênica de amostras de solo tratadas com lodo de esgoto. **Holos Environment**, Rio Claro, v. 8, n. 2, 2008.

CAMARGO, O.A.; MONIZ, A.C.; JORGE, J.A.; VALADARES, J.M.A.S. **Métodos de Análise Química, Mineralógica e Física de Solos do Instituto Agrônomo de Campinas**. Campinas, Instituto Agrônomo, 2009. 77 p. (Boletim técnico, 106, Edição revista e atualizada)

CARVALHO, H. A. A *Tradescantia* como bioindicador vegetal na monitoração dos efeitos clastogênicos das radiações ionizantes. **Radiologia Brasileira**, v. 38, n. 6, p. 459-462, 2005.

COLARES, C. J. G. et al. Estudo de caso do tratamento de efluentes líquidos gerados no processo de galvanoplastia. In: Seminário de Iniciação Científica. 8. Jornada de Pesquisa e Pós-Graduação. 5., 2010, Goiás. **Anais eletrônico...** Goiás: [s.n.], 2010. Disponível em: <http://www.prp.ueg.br/sic2010/apresentacao/trabalhos/pdf/exatas_terra/jornada/estudo_de_caso.pdf>. Acesso em: 20 maio 2012.

FRANCO HERNÁNDEZ, M. O. et al. **Reutilización de biosólidos de lodos residuales de industrias farmacéuticas**. In: Federación Mexicana de Ingeniería Sanitaria y Ciencias Ambientales, AIDIS, México, p. 1-6, 2000. Disponível em: <<http://www.bvsde.paho.org/bvsaidis/tratagua/mexicon/R-0028.pdf>>. Acesso em: 20 maio 2012.

GILL, B. S. & SANDHU, S. S. Application of the *Tradescantia* micronucleus assay for the genetic evaluation of chemical mixtures in soil and aqueous media. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 541, n. 1, p. 65-69, 1992.

KONRAD, E. E. & CASTILHOS, D. D. Alterações químicas do solo e crescimento do milho decorrentes da adição de lodos de curtume. **Revista Brasileira de Ciências do solo**, Viçosa, v. 26, n. 1, p. 257-265, 2002.

LAMBAIS, M.R. et al. Diversidade microbiana nos solos: definindo novos paradigmas. In: VIDAL-TORRADO, P. et al. (orgs). Tópicos em ciência do solo. **Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.4. p.43-84, 2005.

MA, T.H. (1981). *Tradescantia* micronucleus bioassay and pollen tube chromatid aberration test for in situ monitoring and mutagen screening. **Environmental Health Perspectives**, 37, 85.

MA, T.H. *Tradescantia* micronuclei (Trad-MCN) test for environmental clastogens. In: **In vitro toxicity testing of environmental agents**. Kolber, Wong, Grant & Hughes, ed. Nova Iorque: Plenum Publishing Co., 1983.

MA, T.H., CABRERA, G. L., CHEN, R., GILL, B. S., SANDHU, S. S., VANDENBERG, A. L., & SALAMONE, M. F. (1994). *Tradescantia* micronucleus bioassay. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, 310(2), 221-230.

MAJER, B. J. et al. Effects of heavy metal contamination of soils on micronucleus induction in *Tradescantia* and on microbial enzyme activities: a comparative investigation. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 515, n. 1-2, p. 111-124, 2002.

MARTINES, A. M. **Impacto do lodo de curtume nos atributos biológicos e químicos do solo**. 2005. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.



MIELLI, A. C. **Avaliação da atividade genotóxica de lodo de esgoto tratado do Estado de São Paulo com o teste de micronúcleo em células germinativas de *Tradescantia* (Trad-MN).** 2008. Tese (Doutorado). Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo.

NOGUEIRA, T. A. R. et al. Metais pesados e patógenos em milho e feijão caupi consorciados adubados com lodo de esgoto. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 11, n. 3, p. 331-338, 2007.

PHILLIPS, D. J. H. & RAINBOW, P. S. **Biomonitoring of trace aquatic contaminants.** Londres: Chapman & Hall, 1994.

PRADO, R. M. & NATALE, W. Desenvolvimento inicial e estado nutricional do maracujazeiro em resposta à aplicação de lodo têxtil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, n. 6, p. 621-626, 2005.

RANGEL, O. J. P. et al. Efeito de aplicações de lodos de esgoto sobre os teores de metais pesados em folhas e grãos de milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 30, n. 3, 2006. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbcs/v30n3/31223.pdf>> Acesso em: 20 maio 2012.

SANTOS, H. G.; et al. **Sistema brasileiro de classificação de solos.** 2. ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006.

STEINKELLNER, H. et al. Genotoxic effects of heavy metals: comparative investigation with plants bioassays. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 31, n. 2, p. 183-191, 1998.

TRANNIN, I. C. B.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S. Avaliação agrônômica de um biossólido industrial para a cultura do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, n. 3, p. 261-269, 2005.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos.** 3. ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – UFMG, 2005.