

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL

CAROLINE NERY JEZLER

EFEITOS DA CONTAMINAÇÃO DO SOLO COM CHUMBO E CÁDMIO
NO CRESCIMENTO, ÓLEO ESSENCIAL E ULTRAESTRUTURA DE
Mentha arvensis L. (LAMIACEAE)

Ilhéus - BA

2012

CAROLINE NERY JEZLER

**EFEITOS DA CONTAMINAÇÃO DO SOLO COM CHUMBO E CÁDMIO
NO CRESCIMENTO, ÓLEO ESSENCIAL E ULTRAESTRUTURA DE
Mentha arvensis L. (LAMIACEAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Universidade Estadual de Santa Cruz, em cumprimento aos requisitos necessários para obtenção do grau de mestre em Produção Vegetal.

Orientadora: Profa. Dra. Larissa Corrêa do Bomfim Costa

Co-orientador: Prof. Dr. Alex-Alan Furtado de Almeida

Ilhéus - BA

2012

Jezler, Caroline Nery
Efeitos da contaminação do solo com chumbo e
cádmio no crescimento, óleo essencial e ultraestrutura
de *Mentha arvensis* L. (Lamiaceae) / Caroline Nery
Jezler. – Ilhéus, 2012.

45 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de
Santa Cruz, Departamento de Ciências Agrárias e
Ambientais, 2012.

Orientação: Profa. Dra. Larissa Corrêa do Bomfim
Costa, Departamento de Ciências Biológicas.

1. *Mentha*. 2. Morfologia. 3. Metais tóxicos.

CAROLINE NERY JEZLER

**EFEITOS DA CONTAMINAÇÃO DO SOLO COM CHUMBO E CÁDMIO
NO CRESCIMENTO, ÓLEO ESSENCIAL E ULTRAESTRUTURA DE
Mentha arvensis L. (LAMIACEAE)**

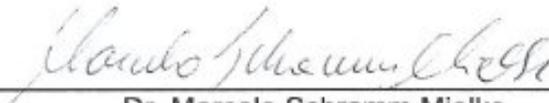
Ilhéus, Bahia, 17/02/2012



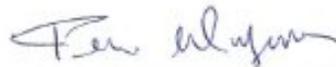
Dr^a. Larissa Corrêa do Bomfim Costa
DCB/UESC
(Orientadora)



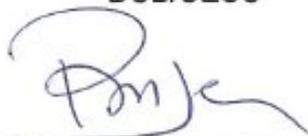
Dr. Ernane Ronie Martins
UFMG



Dr. Marcelo Schramm Mielke
DCB/UESC



Dr. Pedro Antonio Oliveira Mangabeira
DCB/UESC



Dr. Raildo Mota de Jesus
DCET/UESC

AGRADECIMENTOS

Obrigada meu Deus por cada conquista, por cada passo que foi dado na direção que julgava correta, pela força diária e por todo entusiasmo que me fez querer ser diferente, correndo atrás de um futuro brilhante. Foi por meio da fé que entendi o verdadeiro sentido da vida, e esta é apenas uma pequena etapa que acabo de cumprir, pois sei que muitas virão e nunca haverá um ponto final.

Meus sinceros agradecimentos aos meus pais, Carlos e Fátima, os quais amo incondicionalmente. Tudo seria muito mais difícil sem o suporte e amor dedicados. A presença de vocês fortalecia o meu ânimo, iluminava meus dias e alegrava a minha vida. E como não poderia ser diferente, tive como legado o valor aos estudos, os quais deveriam estar sempre em primeiro plano em nossas vidas. Tal pensamento me faz hoje dar mais um passo para um sonho que já se torna real. Também agradeço aos meus irmãos, Carlos Jr., Marcus, e especialmente a minha irmã-amiga Carla, que, mesmo longe se fizeram presentes em pensamentos, ligações e e-mails, de forma que nossos corações estiveram sempre ligados.

Ao meu namorado, Thiago, por toda compreensão nos momentos mais difíceis que vivemos. Obrigada por ser muito mais que um companheiro e por ter me concedido um pouco de tudo que há de melhor em você.

À profa. Dra. Larissa, que me aceitou como orientada desde a graduação, me acompanhando e disponibilizando tudo que me foi necessário em cada etapa a ser cumprida neste mestrado. À profa. Dra. Delmira, pelo carinho e atenção a cada amanhecer, mostrando-me o quanto ainda há para aprender. Ao prof. Dr. Alex-Alan, pelo estímulo e força, na certeza de que tudo isso é só o começo, e que lá fora há um mundo me esperando. E a todos aqueles professores que estiveram ao meu lado (Rosilene, Raildo e Pedro), colaborando com experiências e conhecimentos, para que este trabalho pudesse ser concluído.

Agradeço especialmente a todos os colegas do laboratório: Patrícia, Augusto, Martielly, Laís e Micheângela, que estiveram direta ou indiretamente ligados ao desenvolvimento do projeto, ajudando nos momentos mais difíceis que tive. E em especial, aos amigos Laize e Ricardo, os quais dividiram comigo os melhores momentos vividos na Universidade, compartilhando experiências e tornando meus dias mais fáceis e prazerosos.

SUMÁRIO

RESUMO	i
1 INTRODUÇÃO	6
2 OBJETIVOS	7
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	7
3.1 Plantas medicinais	7
3.1.1 Família Lamiaceae	9
3.1.2 <i>Mentha arvensis</i>	9
3.2 Óleos essenciais	10
3.3 Metais tóxicos	11
3.3.1 Metais tóxicos em solos	11
3.3.2 Metais tóxicos em plantas	12
3.3.3 Metais tóxicos em plantas medicinais	13
3.3.4 Chumbo.....	14
3.3.5 Cádmio	15
REFERÊNCIAS	16
4 EFEITOS DA CONTAMINAÇÃO DO SOLO COM CHUMBO E CÁDMIO NO CRESCIMENTO, ÓLEO ESSENCIAL, ANATOMIA E ULTRAESTRUTURA DE <i>Mentha arvensis</i> L. (LAMIACEAE)	19
Resumo	19
4.1 Introdução.....	21
4.2 Material e Métodos	22
4.3 Resultados	26
4.4 Discussão	39
4.5 Conclusão	41
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	42
REFERÊNCIAS	43

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Variação no teor de Pb (A) e Cd (B) em folhas e raízes de *Mentha arvensis* em relação ao aumento da concentração de Pb e Cd aplicados ao solo (Folha: —, Raiz:.....).....**27**
- Figura 2.** Teor de Ca, S, P, K e Mg em folhas (♦) e raízes (□) de *Mentha arvensis* submetidas às concentrações crescentes de Pb e Cd (Folha: — e Raiz:.....)**28**
- Figura 3.** Teor de Fe, Cu, Zn e Mn em folhas (♦) e raízes (□) de *Mentha arvensis* submetidas às concentrações crescentes de Pb e Cd (Folha: — e Raiz:.....)**29**
- Figura 4.** Espessura média (μm) dos tecidos foliares de *Mentha arvensis* sob concentrações crescentes de Pb e Cd. Espessura da epiderme adaxial (♦), epiderme abaxial (■), parênquima paliçádico (□), parênquima lacunoso (▲), limbo (o)**30**
- Figura 5.** Densidade estomática (mm^2) da face abaxial de folhas de *Mentha arvensis* submetidas às concentrações crescentes de Pb (□) e Cd (♦) (Pb: —, Cd:.....)..... **31**
- Figura 6.** Seção transversal da raiz de *Mentha arvensis* cultivada sob concentrações crescentes de Pb no solo. (A) 0, (B) 8, (C) 16, (D) 32, (E) 64 e (F) 128 mg kg^{-1} . Setas indicam resquícios de parede celular**32**
- Figura 7.** Seção transversal da raiz de *Mentha arvensis* cultivada sob concentrações crescentes de Cd no solo. (A) 0, (B) 8, (C) 16, (D) 32, (E) 64 e (F) 128 mg kg^{-1} . Setas grossas indicam resquícios de parede celular; seta fina indica crescimento irregular de células do periciclo**33**
- Figura 8.** Fotomicrografia eletrônica de transmissão de células do parênquima paliçádico de *Mentha arvensis* sem adição de Pb e Cd, destacando: (A) cloroplasto (seta fina) e plastoglóbulos (cabeça de seta), (B) núcleo (asterisco), (C) mitocôndrias (seta grossa) e grãos de amido (GA) **34**
- Figura 9.** Fotomicrografia eletrônica de transmissão de células do parênquima paliçádico de *Mentha arvensis* cultivada em solo contendo 128 mg (Pb) kg^{-1} , destacando: (A) invaginação do núcleo celular (seta), (B) invaginação da parede celular (seta), (C) deposição de material eletrodense ao redor da mitocôndria (seta) **35**
- Figura 10.** Fotomicrografia eletrônica de transmissão de células do parênquima paliçádico de *Mentha arvensis* cultivada em solo contendo 128 mg (Cd) kg^{-1} , destacando: (A) deposição de material eletrodense na membrana nuclear (cabeça de seta) e (B) ao redor das mitocôndrias (seta) **35**

Figura 11. Espécie *Mentha arvensis* em diferentes estádios de desenvolvimento, sob concentrações crescentes de Pb e Cd aplicados separadamente ao solo. (A) No dia da aplicação dos metais, (B) 7 dias, (C) 10 dias, (D) 30 dias e (E) 40 dias após aplicação dos metais..... **37**

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Médias das variáveis de crescimento da espécie <i>Mentha arvensis</i> tratada com Pb e Cd aplicados separadamente ao solo \pm erro padrão ($p \leq 0,05$)	36
Tabela 2. Teor e rendimento médio de óleo essencial de <i>Mentha arvensis</i> tratada com Pb e Cd aplicados separadamente ao solo \pm erro padrão ($p \leq 0,05$).	38
Tabela 3. Porcentagem relativa dos constituintes do óleo essencial de folhas de <i>Mentha arvensis</i> submetidas às concentrações crescentes de Pb e Cd aplicados separadamente ao solo	38

RESUMO

As propriedades terapêuticas conferidas às plantas medicinais resultam da presença de diversas substâncias biologicamente ativas produzidas por diferentes rotas metabólicas existentes nas plantas. Dentre as substâncias conhecidas, os óleos essenciais se destacam como produto de valor econômico considerável, requerendo estudos que garantam e maximizem sua qualidade. Alguns fatores abióticos, como a poluição por metais tóxicos, podem afetar os aspectos qualitativos e quantitativos dos óleos essenciais, além de provocarem respostas, geralmente, desvantajosas para o crescimento da planta e causarem alterações estruturais e ultraestruturais dos seus tecidos. O incremento dos metais tóxicos por atividades antrópicas ressalta a importância de estudos que avaliem os efeitos destes metais sobre a planta e principalmente a contaminação desse material vegetal que é consumido como medicamento. Desta forma, tendo em vista a importância da espécie *Mentha arvensis* como planta medicinal e como matéria-prima para extração de óleo, teve-se como objetivo avaliar os efeitos de doses crescentes de Pb e Cd aplicados separadamente ao solo sobre o crescimento, a produção e qualidade do óleo essencial, a anatomia de folhas e raízes, a ultraestrutura de folhas e a absorção de macro e micronutrientes em *M. arvensis*.

Palavras-chave: plantas medicinais, teor de óleo essencial, anatomia

ABSTRACT

The therapeutic properties conferred on medicinal plants result from the presence of various biologically active substances that are produced by different metabolic pathways existing in those plants. Among the known substances, the essential oils stand out as a product of considerable economic value, requiring studies to ensure and maximize their quality. Some abiotic factors, such as pollution by toxic metals, may affect the qualitative and quantitative aspects of essential oils, besides provoking responses, generally disadvantageous for the plant growth, and causing structural and ultrastructural changes of tissues. The increment of toxic metals by anthropogenic activities highlights the importance of studies evaluating the effects of these metals in plants, and mainly in the contamination of plant material that is consumed as a medicine. Thus, considering the importance of the species *Mentha arvensis* as a medicinal plant and as raw material for oil extraction, the target of this study was to evaluate the effects of increasing doses of Pb and Cd, applied separately to the soil, on the growth, production and quality of essential oil, the anatomy of leaves and roots, the ultrastructure of leaves, and the absorption of macro and micronutrients in *M. arvensis*.

Key-words: medicinal plant, essential oil content, anatomy

1. INTRODUÇÃO

O uso das plantas como medicamento pode ser tão antigo quanta a própria existência humana, tornando-se de grande importância devido à presença de propriedades terapêuticas ou tóxicas (MARTINS et al., 2000). Estas propriedades são conferidas por princípios ativos produzidos por diversas rotas do metabolismo secundário da planta, resultando em diferentes efeitos (MARTINS et al., 2000; CASTRO et al., 2004).

Dentre os metabólitos secundários conhecidos, os óleos essenciais se destacam principalmente pelo seu valor comercial, sendo largamente utilizados como matéria-prima para diversas indústrias do mercado mundial (BIZZO, HOVELL, REZENDE, 2009). Por este motivo, houve aumento na busca por espécies que atendessem o mercado de extração de óleo, bem como aumento no desenvolvimento de pesquisas que garantissem a qualidade deste produto, mantendo ou maximizando seus efeitos biologicamente ativos.

Várias plantas medicinais fazem parte da família botânica Lamiaceae, a qual possui cerca de 300 gêneros e 7500 espécies distribuídas pelo mundo. No Brasil, existem apenas 350 espécies divididas em 28 gêneros, os quais são considerados nativos ou introduzidos (SOUZA, LORENZI, 2008). Entre os introduzidos, o gênero *Mentha* apresenta-se com diversas espécies medicinais e aromáticas com amplo valor econômico.

A espécie *Mentha arvensis* L. (Lamiaceae) é largamente cultivada no Brasil e no Paraguai para produção de mentol e óleo essencial desmentolado, enquanto o Nordeste brasileiro possui pequenos cultivos que garantem o seu uso medicinal (LORENZI, MATOS, 2008).

No entanto, diversos fatores abióticos como a temperatura, a sazonalidade, a disponibilidade hídrica e nutricional, a radiação ultravioleta e a poluição podem interferir na produção de óleo essencial pelas plantas (GLOBBO-NETO, LOPES, 2007). Entre os diversos tipos de poluição, a contaminação por metais tóxicos apresenta consequências muitas vezes desvantajosas para o crescimento e o desenvolvimento da planta, e conseqüentemente para a produção dos princípios ativos.

A contaminação do ambiente por metais tóxicos é uma realidade mundial (BARTH WAL, NAIR, KAKKAR, 2008; YABE, ISHIZUKA, UMEMURA, 2010), e a

preocupação com as drogas vegetais enfatiza a necessidade de utilização de técnicas que avaliem a qualidade destes vegetais (WHO, 1998).

Grande parte dos metais já está presente no ambiente, mas são incrementados principalmente por meio de atividades antrópicas, como aquelas que liberam chumbo (Pb) e cádmio (Cd) (CALDAS, MACHADO, 2004).

Estes metais tóxicos podem provocar diversos danos fisiológicos acarretando em distúrbios no crescimento (FERNANDES, 2006; JOHN et al., 2009), além de causarem alterações estruturais e ultraestruturais na planta (KASIM, 2006).

2. OBJETIVOS

Avaliar os efeitos de doses crescentes de Pb e Cd aplicados separadamente ao solo sobre o crescimento, a produção e qualidade de óleo essencial, a anatomia de folhas e raízes, a ultraestrutura de folhas e a absorção de macro e micronutrientes em *Mentha arvensis*.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Plantas medicinais

Provavelmente, o uso das plantas como medicamento é tão antigo quanto a própria existência humana, e por suas propriedades terapêuticas ou tóxicas adquiriram fundamental importância na medicina popular. Especificamente no Brasil, a utilização das plantas para fins medicinais foi influenciada pelas culturas indígena, africana e europeia, as quais deixaram expressivas contribuições nas diferentes áreas da cultura brasileira (MARTINS et al., 2000).

A ação terapêutica das plantas medicinais está relacionada com o conjunto de substâncias ativas presente em seus diferentes órgãos, o que as caracteriza como qualquer vegetal capaz de produzir substâncias biologicamente ativas que podem ser utilizadas direta ou indiretamente como medicamento. Estas substâncias são descritas como princípios ativos e são formadas a partir do metabolismo secundário das plantas, o qual está intimamente relacionado com o metabolismo primário destas (CASTRO et al., 2004).

Dentre os vários grupos de metabólitos secundários existem os ácidos orgânicos, alcalóides, antraquinonas, compostos fenólicos, cumarinas, flavonóides, glicosídeos cardioativos, mucilagens, óleos essenciais, saponinas, taninos, e outros (MARTINS et al., 2000), os quais possuem diferentes funções biológicas para as plantas e propriedades terapêuticas diversas.

A alta demanda por óleos essenciais como matéria-prima para diversas indústrias do mercado mundial faz com que haja um aumento em sua produção a fim de atender todo o comércio interno e externo destes produtos (BIZZO, HOVELL, REZENDE, 2009). Sendo assim, há um crescimento na busca por espécies que atendam as indústrias de extração de óleo essencial, o que estimula o desenvolvimento de pesquisas que garantam a qualidade e a segurança das drogas de origem vegetal, mantendo ou maximizando seus efeitos biologicamente ativos.

Espécies da família Lamiaceae possuem considerável papel econômico principalmente por causa destes óleos essenciais que são produzidos em estruturas conhecidas como tricomas glandulares (FAHN, 1988). Esta produção vai depender não apenas do estado metabólico da planta e do desenvolvimento dos tecidos produtores, como também está intimamente integrada com aspectos fisiológicos de toda a planta (SANGWAN et al., 2000). Desta forma, diversos fatores abióticos, como a sazonalidade, temperatura, disponibilidade hídrica e nutricional, radiação ultravioleta e poluição, podem interferir de forma positiva ou negativa na produção de óleos essenciais (GLOBBO-NETO, LOPES, 2007).

Outro fator de relevante importância sobre a produção e qualidade destes óleos está relacionado com a contaminação das plantas por metais tóxicos, os quais estão largamente presentes no ambiente, sendo incrementados principalmente como consequência de diversas atividades antrópicas. Dentre estas, citam-se o uso excessivo de fertilizantes contendo Cd, pesticidas contendo Pb e a irrigação com água contaminada (CALDAS, MACHADO, 2004).

Além de afetar a produção e a qualidade dos óleos essenciais, os metais tóxicos provocam diversos danos fisiológicos como mudanças na permeabilidade da membrana celular, afinidades com grupos fosfato do ADP e ATP, inativação de enzimas ou de proteínas funcionais, os quais acarretarão em uma série de distúrbios como redução do crescimento, inibição da fotossíntese e da respiração, redução no teor de clorofila e carotenóides, degeneração de organelas, e até mesmo a morte da planta (FERNANDES, 2006; JOHN et al., 2009).

Os sintomas de toxicidade dos metais também podem expressar mudanças estruturais e ultraestruturais da planta, como alterações na espessura do mesofilo causadas por reduções dos tecidos clorenquimáticos, redução no diâmetro da raiz, dos feixes vasculares e alteração na frequência de estômatos (KASIM, 2006).

3.1.1 Família Lamiaceae

Dentre as principais famílias botânicas representantes das plantas medicinais está a família Lamiaceae, que é composta por diversas ervas e arbustos, geralmente aromáticos e com ramos de seção quadrangular. Possui distribuição cosmopolita, com cerca de 300 gêneros e 7500 espécies, mas no Brasil apenas 28 gêneros e 350 espécies são encontrados. Nesta família encontram-se diversas espécies de ervas aromáticas, como a lavanda (*Lavandula angustifolia*), a alfavaca (*Ocimum basilicum*) e a hortelã (*Mentha spp.*), sendo esta última introduzida no Brasil (SOUZA, LORENZI, 2008).

3.1.2 *Mentha arvensis*

A espécie *Mentha arvensis* é popularmente conhecida como hortelã-do-brasil, hortelã-japonesa, vique, hortelã, menta, hortelã-pimenta, hortelã-das-cozinhas e como menta-inglesa. É uma erva anual ou perene, com 30 a 60 cm de altura, com folhas levemente denteadas e muito aromáticas. Suas flores brancas se reúnem em inflorescências terminais e todos os seus órgãos têm odor e sabor mentolado. É uma espécie tradicionalmente cultivada no Oriente, e foi introduzida no Brasil por imigrantes do Japão. Seu cultivo em larga escala no Sudeste do Brasil e no Paraguai garante a produção de mentol e óleo essencial parcialmente desmentolado, enquanto no Nordeste do Brasil pequenos cultivos asseguram seu uso medicinal. Esta espécie é largamente utilizada pelas indústrias cosméticas, farmacêuticas e alimentícias por conferir sabor e odor de menta, além de sensação refrescante aos produtos, enquanto seu uso medicinal é resultado das suas propriedades antidispéptica, antiemética, descongestionante nasal e antigripal (LORENZI, MATOS, 2008).

3.2 Óleos essenciais

Dos 3000 óleos essenciais conhecidos, 300 destes apresentam importante papel comercial para as indústrias farmacêutica, agrônômica, alimentícia, sanitária e cosmética. São compostos naturais, complexos e voláteis, resultantes do metabolismo secundário das plantas e caracterizados pelo forte aroma. Adicionalmente às diversas propriedades medicinais, os óleos também apresentam importante papel biológico, protegendo as plantas contra bactérias, vírus, fungos, insetos e herbívoros. Eles podem ser sintetizados nos diversos órgãos da planta e são armazenados em células secretoras, cavidades e ductos secretores, células epidérmicas e tricomas glandulares dependendo da espécie (BAKKALI, AVERBECK, AVERBECK, 2008).

São misturas altamente complexas contendo cerca de 20 a 60 componentes em diferentes concentrações, dos quais dois ou três são considerados majoritários pela alta concentração em que são encontrados, enquanto os outros apresentam quantidades consideravelmente menores (BAKKALI, AVERBECK, AVERBECK, 2008).

A substância altamente volátil que constitui os óleos essenciais é conhecida como terpeno, o qual é formado pela união de unidades com cinco carbonos, o isopreno. Quando possuem oxigênio, os terpenos recebem outra terminologia, descrita como terpenóide. A união de dois isoprenos forma os monoterpenos (C_{10}), que são considerados os componentes mais conhecidos das essências das flores e dos óleos essenciais das ervas e dos temperos. Quando os terpenos possuem 15 carbonos, são descritos como sesquiterpenos, e também fazem parte da composição química dos óleos. Os demais terpenos, diterpeno (C_{20}), triterpeno (C_{30}) e tetraterpeno (C_{40}), constituem uma larga classe de moléculas, sendo que apenas os diterpenos participam da composição química dos óleos, mas como constituintes minoritários (CROTEAU, KUTCHAN, LEWIS, 2000; CASTRO et al., 2004).

Como a produção de óleos essenciais varia em função de fatores fisiológicos, genéticos e ecológicos (CASTRO et al., 2004), diversas pesquisas têm sido desenvolvidas com a finalidade de garantir a produção e a qualidade deste princípio ativo. Exemplo disto são aquelas relacionadas à contaminação das plantas medicinais por metais tóxicos, os quais são responsáveis por mudanças consideráveis no teor e na composição química dos óleos (NASIM; DHIR, 2010).

3.3 Metais tóxicos

Os metais caracterizados como pesados foram assim descritos principalmente em função da sua densidade, a qual apresentava variação entre 3,5 e 7 g cm⁻³, ou densidades acima de 7 g cm⁻³. Outras definições também foram descritas baseando-se no peso atômico, no número atômico e até mesmo nas propriedades químicas dos elementos. No entanto, o termo metal pesado baseado nas diversas definições foi considerado impreciso, pois era frequentemente utilizado para agrupar diversos elementos com características completamente distintas, associados à contaminação e que possuíam atividade potencialmente tóxica. Desta forma, a definição não garantia total veracidade ao termo proposto (DUFFUS, 2002). Por outro lado, o termo metal tóxico também é largamente utilizado fundamentado na idéia de toxicidade dos elementos quando em altas concentrações, tornando o conceito um tanto mais efetivo que os demais. Além disto, outras características ainda são ressaltadas considerando que a toxicidade varia entre os metais considerados, bem como entre os organismos que os absorvem (DUFFUS, 2002). Desta forma, neste trabalho será utilizado este último termo considerando grande parte das características dos elementos utilizados e por não possuírem nenhuma função biológica nas plantas, sendo responsáveis por diversas alterações mesmo em baixas concentrações.

3.3.1 Metais tóxicos em solos

Diversos elementos são considerados essenciais ao crescimento dos vegetais por desempenharem funções consideradas vitais ao desenvolvimento das plantas, como os nutrientes: nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S) (macronutrientes), boro (B), cloro (Cl), cobre (Cu), cobalto (Co), ferro (Fe), manganês (Mn), molibdênio (Mo) e zinco (Zn) (micronutrientes), todos provenientes do solo (FERNANDES, 2006).

Atividades relacionadas à mineração, fabricação e uso de produtos sintéticos como pesticidas, tintas, baterias, lixo industrial e despejo de esgoto em solos podem causar sérios problemas de contaminação tanto em solos agrícolas como também naqueles urbanos. E esta contaminação está diretamente relacionada com a presença de metais tóxicos. No entanto, sabe-se que estes metais ocorrem

naturalmente no ambiente, mas em níveis considerados normais. A grande preocupação ocorre com o incremento e acúmulo destes elementos nos solos, tornando-os fonte potencialmente tóxica para humanos, animais e plantas (SHERAMETI, VARMA, 2009).

Já alguns metais apresentam atividade tóxica mesmo em baixas concentrações, além de não apresentarem nenhuma função biológica conhecida, como o chumbo (Pb) e o cádmio (Cd). Estes, quando absorvidos pelas plantas, podem afetar e restringir o seu crescimento (BENAVIDES, GALLEGOS, TOMARO, 2005; SHARMA, DUBEY, 2005).

Os metais estão presentes na solução do solo na forma de íons livres, em pares ou quelatos, os quais são absorvidos pelas plantas junto com a água e movidos por meio do xilema para as demais partes desta (FOY, CHANEY, WHITE, 1978). Para os metais Cd e Pb, os valores considerados normais para os padrões de qualidade são $0,01 \text{ mg L}^{-1}$ da solução do solo ou menor que 1 mg kg^{-1} em solos agrícolas (SHERAMETI, VARMA, 2009). No entanto, os solos apresentam normalmente 15 mg kg^{-1} de Pb e $0,53 \text{ mg kg}^{-1}$ de Cd, sendo considerados perigosos os valores excedentes a estes.

A disponibilidade dos elementos no solo dependerá principalmente de características minerais e do seu pH, sendo que quanto menor a partícula, maior a adsorção dos metais e conseqüentemente menor a absorção destes pelas plantas (PANUCCIO et al., 2009). As características químicas do Pb, como eletronegatividade alta, pequeno raio hidratado e estrutura eletrônica, também contribuem para a maior adsorção nas partículas do solo comparado ao Cd (APPEL et al., 2008).

3.3.2 Metais tóxicos em plantas

Como uma das principais vias de entrada dos metais tóxicos é a raiz, é provável que ela seja o primeiro órgão a sofrer danos por causa destes elementos, sendo os demais órgãos prejudicados após o transporte destes metais, ou como consequência dos seus efeitos danosos na própria raiz. O efeito prejudicial dos metais tóxicos pode estar relacionado à inibição enzimática e conseqüente redução da absorção de determinados elementos e substâncias essenciais ao desenvolvimento das plantas, alterações no balanço hídrico e no aparato

fotossintético, estresse oxidativo como resultado da produção de radicais livres e a peroxidação lipídica (SANITÁ DI TOPPI, GABRIELLI, 1999). Todas estas alterações podem resultar em deficiência no crescimento, modificações estruturais dos tecidos vegetais e mudanças ultraestruturais.

Apesar de algumas plantas se adaptarem a condições de estresse químico, várias delas podem ser altamente sensíveis ao excesso de alguns elementos específicos, apresentando ou não sintomas visíveis de toxicidade. O Pb e o Cd, por exemplo, possuem uma faixa crítica de 30-300 e 5-30 mg kg⁻¹, respectivamente, nos tecidos das plantas. Por outro lado, as concentrações entre 0,2-20mg (Pb) kg⁻¹e entre 0,1-2,4 mg (Cd) kg⁻¹ são consideradas normais e não oferecem perigo ao metabolismo vegetal (KABATA-PENDIAS, PENDIAS, 2000).

As plantas podem ser divididas em três grupos de acordo com a sua capacidade para acumular metais tóxicos. As acumuladoras concentram maior quantidade de metal em seus tecidos, independente da concentração alta ou baixa destes no solo; as indicadoras acumulam a mesma quantidade de metal existente no ambiente; enquanto as excludoras mantêm baixa a concentração de metal em seus tecidos mesmo em ambientes com altas concentrações destes (SEREGIN, IVANOV, 2001).

Aquelas plantas com capacidade para acumular altas concentrações de metais tóxicos em seus tecidos são descritas como hiperacumuladoras, e não sofrem com danos celulares. Este fenômeno de hiperacumulação é bastante complexo e envolve transporte através da membrana plasmática das células da raiz, translocação para os demais órgãos por meio do xilema, e por fim detoxificação e sequestro dos metais por toda planta e em nível celular (JENKS, HASEGAWA, 2005).

3.3.3 Metais tóxicos em plantas medicinais

A utilização das plantas medicinais como medicamento tem sido causa de preocupação, uma vez que as condições irregulares do cultivo destas plantas podem levar a sérios problemas de contaminação do vegetal, e conseqüentemente para o usuário, pois seu consumo contribui com a ingestão de minerais essenciais ou não. Tal contaminação pode ser resultado de emissões de partículas do ar, irrigação com água contaminada, utilização de fertilizantes e herbicidas, os quais são responsáveis

principalmente pelo fornecimento de metais tóxicos como Pb e Cd (ABOU-ARAB et al., 1999).

O teor de metais tóxicos absorvido pelas plantas medicinais pode variar entre as espécies e os metais. Além disto, os diferentes métodos de utilização destas plantas *in natura* podem extrair maior ou menor quantidade de metais a partir dos tecidos vegetais (ABOU-ARAB, ABOU DONIA, 2000).

Algumas espécies utilizadas na medicina tradicional têm sido estudadas quanto a esta contaminação por metais tóxicos e os resultados são alarmantes, uma vez que o aumento da concentração destes metais no ambiente causa o aumento destes nas plantas. Desta forma, o consumo de drogas vegetais sem a correta regulamentação pode levar ao envenenamento de quem as utiliza, sendo necessário, portanto, o estudo de técnicas que garantam a segurança do consumidor (ERNST, 2002; BARTH WAL, NAIR, KAKKAR, 2008).

Os testes de qualidade de drogas vegetais para a presença de metais tóxicos como Pb e Cd são descritos pela World Health of Organization (WHO), a qual informa valores máximos de ingestão diária de 10 mg kg^{-1} de Pb e $0,3 \text{ mg kg}^{-1}$ de Cd em materiais vegetais secos (WHO, 1998).

No Brasil, a alta diversidade de plantas utilizadas como medicamento tem sido foco de trabalhos que avaliam os teores de elementos tóxicos em seus tecidos, revelando níveis elevados ou não para a utilização humana (CALDAS, MACHADO, 2004; VULCANO, SILVEIRA, ALVAREZ-LEITE, 2008; BAYE, HYMETE, 2010). No entanto, apesar da legislação brasileira não estabelecer os teores dos metais em chás, a Portaria n° 685 de 1998 da ANVISA (BRASIL, 1988) fixa o limite de $1,0 \text{ mg kg}^{-1}$ de Cd em peixes e produtos de pescas e alguns limites para chumbo como $0,3 \text{ mg kg}^{-1}$ em sucos de frutas frescas, $1,0 \text{ mg kg}^{-1}$ para chocolate adocicado e $2,0 \text{ mg kg}^{-1}$ para caramelos e balas, peixes e produtos de pescas e partes comestíveis de cefalópodes.

3.3.4 Chumbo

O Pb possui densidade $11,4 \text{ g cm}^{-3}$, massa atômica 207,2 g e número atômico 82. É um constituinte comum da crosta terrestre, com cerca de 20 mg kg^{-1} , sendo considerado inofensivo quando não explorado ou transformado para utilização humana. Origina-se de fontes naturais ou também antropogênicas, sendo

atualmente utilizado como revestimento de cabos, proteção contra radiação, em ligas, baterias, pigmentos e vidros. Pode ser absorvido e acumulado nos diferentes órgãos das plantas, e sua absorção dependerá de fatores como pH, tamanho de partículas e da capacidade de trocas catiônicas do solo, uma vez que este metal é fortemente adsorvido nas partículas do solo, com conseqüente redução da sua disponibilidade para os organismos (CASAS, SORDO, 2006).

Dentre os principais efeitos causados pelo excesso deste metal às plantas tem-se a redução do crescimento, clorose, inibição da fotossíntese, alteração da nutrição mineral, do estado hídrico e do balanço hormonal. Além disso, o Pb pode afetar a estrutura e a permeabilidade das membranas acarretando em diversos efeitos morfológicos, fisiológicos e bioquímicos (SHARMA, DUBEY, 2005).

A interação entre o Pb e os elementos utilizados para o desenvolvimento das plantas pode causar desbalanço nutricional e conseqüente prejuízo para o crescimento destas. O Ca é um dos elementos cuja absorção pode ser reduzida na presença do Pb, resultando na inibição da ação enzimática, enquanto o P e o S podem atuar na redução da toxicidade deste metal (KABATA-PENDIAS, PENDIAS, 2000).

3.3.5 Cádmio

O Cd é considerado um metal tóxico, com densidade $8,6 \text{ g cm}^{-3}$, massa atômica 112,41 g e número atômico 48. É largamente lançado no ambiente por meio de sistemas de aquecimento, incineração de lixo, tráfego urbano, como contaminante de fertilizantes fosfatados, entre outros. Como ocorre naturalmente em algumas rochas, este metal também é encontrado em áreas com baixa pressão antrópica, sendo liberado por processos de mineralização destas rochas (SANITÁ DI TOPPI, GABRIELLI, 1999).

A capacidade com que as plantas podem absorver este metal do solo vai depender de fatores como concentração e biodisponibilidade, os quais são determinados pelo teor de matéria orgânica presente no solo, pH, temperatura, bem como a presença de outros elementos (SANITÁ DI TOPPI, GABRIELLI, 1999).

O Cd pode interferir na absorção, transporte e utilização de elementos, como Ca, K, P, Mg, Fe, Mn, Cu, Zn e Ni, além de afetar o balanço hídrico das plantas (DAS, SAMANTARAY, ROUT, 1997; SANITÁ DI TOPPI, GABRIELLI, 1999).

O Zn e o Cu podem reduzir a absorção de Cd, enquanto a interação Cd-Fe pode causar distúrbios ao aparato fotossintético. O excesso de Ca^{2+} pode evitar a absorção de Cd, pois estes íons são capazes de substituir o Cd nos mecanismos de transporte. Já a absorção de Mg e Mn pode ser afetada pelo efeito prejudicial do Cd na membrana celular, inviabilizando a absorção e o transporte dos elementos dentro das plantas (KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 2000).

REFERÊNCIAS

ABOU-ARAB, A.A.K.; ABOU DONIA, M.A. Heavy metals in Egyptian Spices and medicinal plants and the effect of processing on their leaves. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v.48, p.2300-2304, 2000.

ABOU-ARAB, A.A.K.; KAWTHER, M.S.; TANTAWY, M.E.E.; BADEAA, R.I.; KHAYRIA, N. Quantity estimation of some contaminants in commonly used medicinal plants in the Egyptian market. **Food Chemistry**, v.67, p.357-363, 1999.

APPEL, C., MA, L.Q., RHUE, R.D., REVE, W. Sequential sorption of lead and cadmium in tree tropical soils. **Environmental Pollution**, v.155, p.132-140, 2008.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils - A review. **Food and Chemical Toxicology**, v.46, p.446-475, 2008.

BARTH WAL, J.; NAIR, S.; KAKKAR, P. Heavy metal accumulation in medicinal plants collected from environmentally different sites. **Biomedical and Environmental Sciences**, v.21, p.319-324, 2008.

BAYE, H.; HYMETE, A. Lead and cadmium accumulation in medicinal plants collected from environmentally different sites. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v.84, p.197-201, 2010.

BENAVIDES, M.P.; GALLEGOS, S.M.; TOMARO, M.L. Cadmium toxicity in plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v.17, n.1, p.21-34, 2005.

BIZZO, H.R.; HOVELL, A.M.C.; REZENDE, C.M. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v.32, n.3, p.588-594, 2009.

BRASIL. Portaria nº 685 de 27 de agosto de 1998. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária aprova o Regulamento Técnico: "Princípios Gerais para o Estabelecimento de Níveis de Máximos de Contaminantes Químicos em Alimentos" e seu anexo: "Limites máximos de tolerância para contaminantes inorgânicos". *Diário Oficial da União*, Brasília; Poder Executivo, de 28 de agosto de 1988. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/685_98.htm>. Acesso em: 28 jan 2012.

CALDAS, E.D.; MACHADO, L.L. Cadmium, mercury and lead in medicinal herbs in Brazil. **Food and Chemical Toxicology**, v.42, p. 599-603, 2004.

CASAS, J.S.; SORDO, J. (eds.) 2006. Lead: chemistry, analytical aspects, environmental impact and health effects. The Netherlands: Elsevier. 354p.

CASTRO, H.G. et al. 2004. **Contribuição ao estudo das plantas medicinais: metabólitos secundários**. 2 ed. Visconde do Rio Branco, 113p.

CROTEAU, R., KUTCHAN, T.M., LEWIS, N.G., 2000. Natural products (secondary metabolites). In: Buchanan, B., Gruissem, W., Jones, R. (Eds.), *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. American Society of Plant Physiologists.

DAS, P.; SAMANTARAY, S.; ROUT, G.R. Studies on cadmium toxicity in plants: a review. **Environmental Pollution**, v.98, n.1, p.29-36, 1997.

DUFFUS, J.H. "Heavy metals"- a meaningless term? (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, Research Triangle Park, NC, v.74, n.5, p.793-807, 2002.

ERNST, E. Toxic heavy metals and undeclared drugs in Asian herbal medicines. **Trends in Pharmacological Sciences**, v.23, n.3, p.136-139, 2002.

FAHN, A. Secretory tissues in vascular plants. **New Physiology**. v.108, p.229-257, 1988.

FERNANDES, M.S. 2006. **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 432p.

FOY, C.D.; CHANEY, R.L.; WHITE, M.C. The physiology of metal toxicity in plants. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 29, p.511-566, 1978.

GLOBBO-NETO, L.; LOPES, N.P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v.30, n.2, p.374-381, 2007.

JENKS, M.A.; HASEGAWA, P.M. 2005. **Plant abiotic stress**. 1st ed, Oxford: Blackwell Publishing. 632p.

JOHN, R.; AHMAD, P.; GADGIL, K.; SHARMA, S. Heavy metal toxicity: Effect on plant growth, biochemical parameters and metal accumulation by *Brassica juncea* L. **International Journal of Plant Production**, v.3, n.3, p.65-76, 2009.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. 2000. **Trace elements in soils and plants**. 3rd ed. Boca Raton, USA: CRC Press. 413p.

KASIM, W.A. Changes induced by copper and cadmium stress in the anatomy and grain yield of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. **International Journal of Agriculture & Biology**, v.8, n.1, p.123-128, 2006.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2. ed. Nova Odessa, Sp: Instituto Plantarum, 2008. 544p.

MARTINS, E.R. et al. **Plantas medicinais**, Viçosa, UFV, 2000. 220p.

NASIM, S.A.; DHIR, B. Heavy metal alter the potential of medicinal plants. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, v.203, p.139-149, 2010.

PANUCCIO, M.R.; SORGO, N.A, A.; RIZZO, M.; CACCO, G. Cadmium adsorption on vermiculite, zeolite and pumice: Batch experimental studies. **Journal of Environmental Management**, v.90, p.364-374, 2009.

SANGWAN, N.S.; FAROOQI, A.H.A.; SHABIH, F.; SANGWAN, R.S. Regulation of essential oil production in plants. **Plant Growth Regulation**, v.34, p.3-21, 2000.

SANITÁ DI TOPPI, L.; GABBRIELLI, R. Response to cadmium in higher plants. **Environmental and Experimental Botany**, v.41, p.105-130, 1999.

SEREGIN, I.V.; IVANOV, V.B. Physiological aspects of cadmium and lead toxic effects on higher plants. **Russian Journal of Plant Physiology**, v.48, n.4, 2001.

SHARMA, P.; DUBEY, R.S. Lead toxicity in plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v.17, n.1, p.35-52, 2005.

SHERAMETI, I.; VARMA, A. 2009. **Soil Heavy Metals**, v.19 of Soil Biology. Springer, 492p. Disponível em:
<http://books.google.com.br/books?id=dUh22HZdsAIC&dq=heavy+metal+toxic+meta&hl=pt-BR&source=gbs_navlinks_s>. Acesso em: 23 dez 2011.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II**, 2. ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2008. 703p.

VULCANO, I.R.C.; SILVEIRA, J.N.; ALVAREZ-LEITE, E.M. Teores de chumbo e cádmio em chás comercializados na região metropolitana de Belo Horizonte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.44, n.3, p.425-431, 2008.

WHO, 1998. **Quality control methods for medicinal plant materials**. WHO Geneva, Switzerland. 23p.

YABE, J.; ISHIZUKA, M.; UMEMURA, T. Current levels of heavy metal pollution in Africa. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v.72, n.10, p.1257-1263, 2010.

4 EFEITOS DA CONTAMINAÇÃO DO SOLO COM CHUMBO E CÁDMIO NO CRESCIMENTO, ÓLEO ESSENCIAL, ANATOMIA E ULTRAESTRUTURA DE *Mentha arvensis* L. (LAMIACEAE)

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de concentrações crescentes de Pb e Cd (8, 16, 32, 64 e 128 mg kg⁻¹) aplicados separadamente ao solo sobre o crescimento de *Mentha arvensis*, produção e qualidade de óleo essencial, anatomia de folhas e raízes, ultraestrutura de folhas e sobre a absorção de macro e micronutrientes pela planta 40 dias após a aplicação dos metais. Foi utilizado delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições para cada tratamento. A espécie *M. arvensis* não demonstrou efeito da aplicação dos metais em grande parte das variáveis de crescimento analisadas, nem no teor e rendimento de óleo essencial. A composição química deste óleo apresentou pequenas variações sem tendência clara, mantendo a concentração do mentol como constituinte majoritário. Quanto às características estruturais, observou-se menor espessura dos tecidos foliares na concentração 64 mg kg⁻¹ dos metais Pb e Cd, bem como alterações nas células do córtex e epiderme das raízes nas concentrações 16, 32, 64 e 128 mg kg⁻¹. Em nível ultraestrutural, houve invaginação da membrana do núcleo e da parede celular, além de depósitos eletrodensos na membrana de mitocôndrias e do núcleo na concentração 128 mg kg⁻¹ de Pb e Cd. Os metais foram absorvidos em quantidades diferentes pelas raízes, e nas folhas apenas o teor de Cd foi quantificado, tendo em vista a baixa translocação de Pb para este órgão. Ainda foi possível observar diferentes respostas de absorção de macro e micronutrientes pelos dois órgãos. Por fim, pode-se concluir que apesar da espécie *M. arvensis* apresentar alterações estruturais e ultraestruturais pelo efeito das concentrações de Pb e Cd, esta pode ser considerada como acumuladora destes metais tóxicos, uma vez que não apresentou sintomas de toxicidade que comprometessem o crescimento e a produção de óleo essencial da planta, além de absorver quantidades significativamente altas em seus tecidos.

Palavras-chave: metal tóxico, planta medicinal, anatomia, ultraestrutura

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the effect of increasing concentrations of Pb and Cd (8, 16, 32, 64 and 128 mg kg⁻¹), applied separately to the soil, on the growth of *Mentha arvensis*, the production and quality of essential oil, the anatomy of leaves and roots, the leaf ultrastructure, and the absorption of macro and micronutrients by the plant 40 days after the application of the metals. A completely randomized design was used, with five replicates for each treatment. The species *M. arvensis* showed no effect after the application of metals neither in most of the growth variables, nor in the content and productivity of essential oil. The chemical composition of the oil showed small variations with no clear trend, keeping the concentration of menthol as its major constituent. In relation to the structural characteristics, a thinner leaf tissue was observed at the concentration of 64 mg kg⁻¹ of Pb and Cd, as well as variations in the cortex and epidermis cells of the roots in the concentrations of 16, 32, 64 and 128 mg kg⁻¹. In the ultrastructural level, there was an invagination of the membrane of mitochondria and nuclei at a concentration of 128 mg kg⁻¹ Pb and Cd. The metals were absorbed in different amounts by the roots, and in the leaves only the Cd content was measured, considering the low Pb translocation to this organ. Different macro and micronutrients absorption responses were observed in the two organs. Finally, the evidences indicate that, although the species *M. arvensis* showed structural and ultrastructural changes as consequence of the effect of the concentrations of Pb and Cd, this could be considered as an accumulator of these toxic metals, since it showed no signs of toxicity that might compromise its growth or the production of essential oil, besides absorbing significantly high quantities in their tissues.

Key-words: heavy metal, medicinal plant, anatomy, ultrastructure

4.1 Introdução

A família Lamiaceae é composta por diversas espécies de considerável papel econômico principalmente por causa da produção de óleos essenciais (FAHN, 1988), que são produtos naturais provenientes do metabolismo secundário da planta, hidrofóbicos, exalam fragrância e são constituídos por diversos compostos aromáticos voláteis (SILVA, 2011). Nesta família encontram-se diversas espécies de ervas aromáticas, como a lavanda (*Lavandula angustifolia*), a alfavaca (*Ocimum basilicum*) e a hortelã (*Mentha spp.*), sendo esta última introduzida no Brasil (SOUZA, LORENZI, 2008).

O cultivo da espécie *Mentha arvensis* L. foi aprimorado no Brasil principalmente para a exportação de mentol, seu composto químico majoritário. Além disto, pequenos cultivos no país garantem sua utilização como alternativa medicinal pela atribuição das propriedades antiemética, descongestionante nasal e antigripal (SOUZA, LORENZI, 2008). No entanto, o valor econômico da espécie está principalmente relacionado com a produção de óleo essencial, o qual atende a demanda das diversas indústrias farmacêuticas, alimentícias, cosméticas e de perfumes.

A produção de óleo essencial é regulada principalmente por fatores genéticos e ambientais que podem promover diversas mudanças na produção e na qualidade deste produto natural (SANGWAN et al., 2000). Dentre os fatores ambientais, o incremento de metais tóxicos principalmente como consequência das atividades antrópicas, tornou-se motivo de grande preocupação. Além disto, a contaminação das plantas medicinais por metais tóxicos pode levar ao envenenamento de quem as consome como medicamento (ABOU-ARAB, ABOU DONIA, 2000).

O Pb é considerado um importante poluente ambiental, sendo largamente utilizado em baterias, tintas, vidros, tubos e fertilizantes (CALDAS, MACHADO, 2004; CASAS, SORDO, 2006). Solos contaminados com este metal podem causar reduções severas na produtividade das culturas (SHARMA, DUBEY, 2005), além de afetar a produção e a qualidade dos óleos essenciais (ZHELJAZKOV, CRAKER, XING, 2006). Ainda assim, a toxicidade do metal exibida pelas plantas pode ser atribuída a sintomas como inibição do crescimento da raiz e consequente redução do crescimento da planta, clorose e diversos efeitos sobre os aspectos fisiológicos e anatômicos da planta (TUNG, TEMPLE, 1996; SHARMA, DUBEY, 2005).

O Cd é considerado um metal tóxico, encontrado naturalmente no solo por processos de mineralização de algumas rochas, mas é largamente lançado no ambiente por meio de sistemas de aquecimento, incineração de lixo, tráfego urbano, contaminante de fertilizantes fosfatados, entre outros. Sua absorção pode interferir na assimilação, no transporte e na utilização de diversos elementos, como Ca, K, P, Mg, Fe, Mn, Cu, Zn e Ni, além de afetar o balanço hídrico das plantas (DAS, SAMANTARAY, ROUT, 1997; SANITÁ DI TOPPI, GABRIELLI, 1999). O Cd pode interferir também no crescimento da planta e nos aspectos morfológicos e ultraestruturais dos seus órgãos (OUZOUNIDOU, ELEFTHERIOU, 1997; KASIM, 2006).

De acordo com as circunstâncias expostas, o presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da aplicação de doses crescentes de Pb e Cd ao solo sobre o crescimento, a produção e qualidade do óleo essencial, a anatomia de folhas e raízes, a ultraestrutura de folhas e a absorção de macro e micronutrientes em *Mentha arvensis*.

4.2 Materiais e Métodos

4.2.1 Condições de cultivo

Mudas da espécie medicinal *Mentha arvensis* foram propagadas vegetativamente por enraizamento de estacas de caule diretamente em vasos plásticos de 5 kg, contendo solo como substrato. Este, por sua vez, foi homogeneizado e analisado quimicamente antes da execução do experimento, o qual foi conduzido em casa de vegetação. O solo apresentou as seguintes características: pH 5,3, Al 1,3 mmol_c dm⁻³, Ca 107 mmol_c dm⁻³, Mg 45 mmol_c dm⁻³, K 6 mmol_c dm⁻³, P 169 mg dm⁻³, S-SO₄⁻² 10 mg dm⁻³, Fe 283 mg dm⁻³, Mn 21,1 mg dm⁻³, matéria orgânica 86 g dm⁻³, Pb 14 mg kg⁻¹ e Cd 0,2 mg kg⁻¹.

Trinta dias após o plantio das mudas, foram aplicadas doses crescentes de Pb e Cd, separadamente, utilizando-se como fonte destes elementos o nitrato de Pb [Pb(NO₃)₂] e o cloreto de Cd (CdCl₂.5/2H₂O) nas concentrações 8, 16, 32, 64 e 128 mg kg⁻¹ de solo. Cinco repetições de cada tratamento foram mantidas por 40 dias juntamente com o tratamento controle.

As plantas foram irrigadas diariamente procurando-se manter a umidade do solo em torno de 70% da capacidade de campo, ajustada com base no peso dos vasos.

4.2.2 Análise de macro, micronutrientes, Pb e Cd

As amostras de folha e raiz coletadas 40 dias após aplicação dos metais foram secas em estufa de circulação forçada de ar a 70 °C e submetidas separadamente à moagem em moinho de bolas (Microtritador TECNAL – Modelo TE 350) durante um e três minutos, respectivamente. A amostra triturada foi armazenada em frascos de vidro tampados, previamente descontaminados e mantidos em sala com desumidificador, a fim de evitar absorção de umidade.

Para determinação de macro, micronutrientes, do Pb e Cd, as amostras foram pesadas em balança digital em triplicatas analíticas de cerca de 0,2010 g e digeridas utilizando bloco digestor da TECNAL (modelo TE-007MP).

Todo material vegetal foi submetido à digestão ácida, adicionando 3 mL de ácido nítrico concentrado (65%), iniciando o aquecimento do bloco digestor e mantendo-se a temperatura a 50 °C por 30 minutos. Posteriormente, aumentou-se a temperatura para 80 °C, mantendo-a por 1 h. Após este período, a temperatura foi elevada e mantida a 130 °C por 1 h, adicionando 1 mL de peróxido de hidrogênio (30%) a cada 20 min. Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico (MERCK) e a água utilizada na preparação das soluções foi obtida por meio do sistema de purificação Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, EUA) com resistividade de 18,2 MΩ. As vidrarias utilizadas para digestão das amostras foram descontaminadas por meio de imersão em solução de ácido nítrico (10%) durante 24 h.

Ao final da digestão, o material digerido foi transferido para tubos falcon de 15 mL, completando-se o volume para 12 mL com água Milli-Q (Millipore).

As determinações analíticas foram efetuadas por espectrometria de emissão óptica com plasma de argônio indutivamente acoplado (ICP OES), equipamento Varian modelo 710 ES (Varian, Mulgrave, Austrália), para quantificação de macronutrientes (Ca, Mg, K, P e S), micronutrientes (Fe, Zn, Mn, Cu) e dos metais tóxicos (Pb e Cd).

Foram utilizadas as seguintes linhas espectrais: K (766,461), P (213,618), S (181,972), Ca (373,690), Mg (279,80), Fe (238,204), Cu (327,395), Zn (213,857), Mn

(260,568), Pb (220,35) e Cd (214,439), as quais foram escolhidas em função das sensibilidades e da ausência de interferências por sobreposições das linhas.

4.2.3 Análise anatômica e ultraestrutural

A região mediana de folhas do terceiro nó foi coletada 40 dias após aplicação de Pb e Cd no solo, de quatro repetições dos diferentes tratamentos, e fixadas imediatamente em glutaraldeído 2,5% e tampão cacodilato de sódio 0,1 M, pH 7,2. As amostras de raiz foram obtidas da região de alongamento e amostradas aleatoriamente entre as quatro repetições de cada tratamento, sendo mantidas no mesmo fixador.

Todo material vegetal coletado foi desidratado em série etanólica (75 - 95%) e incluído em historesina (Leica) para análise anatômica, e pós-fixado em tetróxido de ósmio a 1%, lavado em tampão, desidratado em série etanólica (30 - 100%) e embebido em resina LR White para análise ultraestrutural. No entanto, para esta última análise foram utilizadas apenas amostras do controle e da maior concentração de Pb (128 mg kg^{-1}).

Utilizando micrótomo rotativo Leica RM 2145 (Leica Microsystems, Nussloch, Alemanha), foram obtidos cortes finos com $7 \mu\text{m}$ de espessura, sendo posteriormente corados com azul de toluidina a 1%. As lâminas foram observadas e fotografadas em microscópio invertido Leica DMI 3000 B (Wetzlar, Alemanha) para posterior medição dos tecidos foliares (epidermes, parênquimas paliçádico e lacunoso) por meio do Software Leica Application Suite V3.

Os cortes semifinos e ultrafinos, com $2 \mu\text{m}$ e 70 nm de espessura, respectivamente, foram obtidos em ultramicrótomo Leica UC6 para observação em microscópio eletrônico de transmissão Morgagni 268D (FEI Company, Soft Imaging System, Alemanha), operando com voltagem de aceleração de 80 kV .

4.2.4 Avaliação do crescimento

Após 40 dias da aplicação dos metais ao solo, quantificou-se a altura das plantas (ALT), até a inserção da última folha, o diâmetro do caule (DIAM), sempre acima do primeiro nó, a área foliar (AF) e o número de folhas (NF), utilizando-se uma régua milimetrada, um paquímetro digital e um medidor eletrônico de área foliar,

modelo LI-3100 (Li-Cor Corporation, USA), respectivamente. Também foram avaliados a biomassa seca total da planta (MST), de folhas (MSF), caules (MSC) e raízes (MSR) por meio da secagem do material vegetal em estufa de circulação forçada de ar a 70 °C, até peso constante. Utilizando o peso da biomassa seca e a área foliar calculou-se a massa foliar específica (MFE = MSF/AF) e a razão de área foliar (RAF = AF/MST), segundo Hunt (1990).

4.2.5 Extração e composição química de óleo essencial

Após 40 dias da aplicação dos metais, realizou-se a coleta das folhas de *M. arvensis* para posterior extração e análise do óleo essencial. Estas folhas foram secas em sala com desumidificador até peso constante, durante sete dias. Após o período de secagem, as folhas das cinco repetições de cada tratamento foram misturadas e homogeneizadas para extração de óleo, a qual foi realizada por hidrodestilação em aparelho de Clevenger, em quadruplicata, por uma hora. Por fim, determinou-se a massa de óleo de cada tratamento para cálculo do teor ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ biomassa seca) e rendimento médio de óleo essencial (g planta^{-1}).

A análise quantitativa do óleo foi realizada em cromatógrafo gasoso Varian 3800 Saturn (Varian, Walnut Creek, CA, USA), equipado com coluna capilar VF5-ms (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm) e um detector de ionização de chama. A temperatura teve início a 70 °C, em seguida programada até 200 °C a 8 °C min^{-1} e até 260 °C a 10 °C min^{-1} , sendo mantida nesta temperatura por 5 minutos. Utilizou-se hélio como gás de arraste com fluxo constante de 1,2 mL min^{-1} . O volume de injeção foi de 1 μL de solução do óleo a 10% em CHCl_3 , na razão de *split* 1:10.

A análise qualitativa foi realizada em cromatógrafo Varian Chromopack 2000 (Varian, Walnut Creek, CA, USA) com a mesma programação e coluna capilar supracitadas.

Os componentes do óleo foram identificados através da comparação de seu espectro de massas existente na literatura (Adams, 2007) com espectros do banco de dados (NIST21 e NIST107) do equipamento e, também, pela comparação dos índices de retenção com aqueles da literatura. Os índices de retenção de Kovats (IK) foram determinados utilizando uma série homóloga de n-alcenos ($\text{C}_8\text{-C}_{18}$) injetados nas mesmas condições cromatográficas das amostras, utilizando a equação de Van den Dool & Kratz (1963).

4.2.6 Análise estatística

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC). Foi aplicada análise de variância ($p \leq 0,05$) e os dados foram ajustados conforme modelos de regressão, sendo o grau de ajuste medido pelo coeficiente de determinação, o qual foi testado pelo teste t a 5% de probabilidade.

4.3. RESULTADOS

4.3.1 Macro, micronutrientes, Pb e Cd

Não foi possível detectar o teor de Pb em folhas de plantas expostas às concentrações inferiores a 128 mg (Pb) kg^{-1} de solo, tendo em vista a baixa translocação para este órgão e o limite de detecção do ICP OES para este elemento ($>2 \text{ mg kg}^{-1}$). No entanto, nesta concentração de Pb foi possível quantificar em média 2 mg kg^{-1} de biomassa seca de folhas. Já em raízes de *M. arvensis* houve resposta dose dependente significativa ($p \leq 0,05$), sendo o acúmulo de Pb proporcional ao aumento da concentração deste metal aplicado no solo, atingindo absorção máxima de 50 mg kg^{-1} de biomassa seca na concentração 128 mg kg^{-1} de solo (Figura 1A).

O teor de Cd em folhas e raízes de *M. arvensis* foi significativamente ($p \leq 0,05$) influenciado pela concentração do metal aplicado no solo, com menores concentrações nas folhas do que nas raízes. A maior absorção de Cd ocorreu na concentração 128 mg kg^{-1} de solo, com absorção máxima de 12 e 78 mg kg^{-1} de biomassa seca na folha e na raiz, respectivamente (Figura 1B).

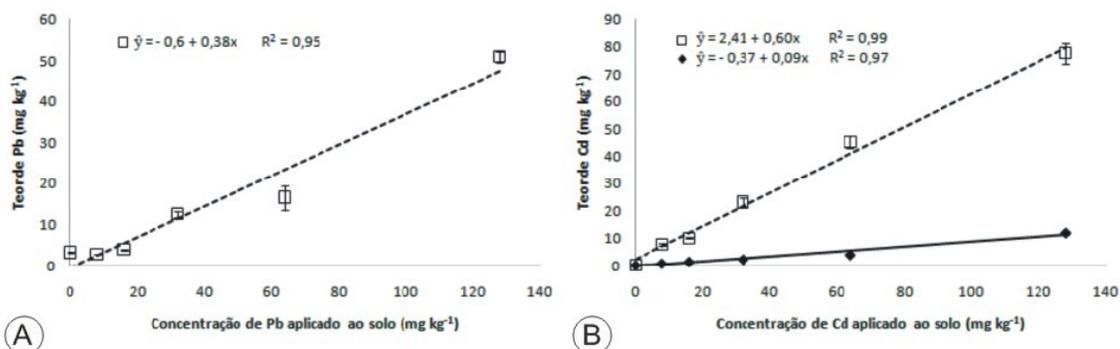


Figura 1. Variação no teor de Pb (A) e Cd (B) em folhas e raízes de *Mentha arvensis* em relação ao aumento da concentração de Pb e Cd aplicados ao solo (Folha:—, Raiz:.....).

De forma geral, as concentrações crescentes de Pb e Cd aplicados ao solo influenciaram significativamente ($p \leq 0,05$) o teor de macro e micronutrientes presentes em folhas e raízes de *M. arvensis*.

Em plantas expostas ao Pb houve resposta linear crescente para o teor de S em folhas e de K em raízes, demonstrando maiores valores na concentração 128 mg kg^{-1} , enquanto o teor de Ca, P e Mg presentes nas folhas não variou significativamente ($p \leq 0,05$) com o aumento da concentração de Pb no solo. Já em plantas expostas ao Cd, observou-se comportamento linear crescente para o Ca em folhas e para o S e K em raízes, enquanto o Ca na raiz de *M. arvensis* não apresentou variação significativa ($p \leq 0,05$) com o aumento da concentração do metal no solo (Figura 2).

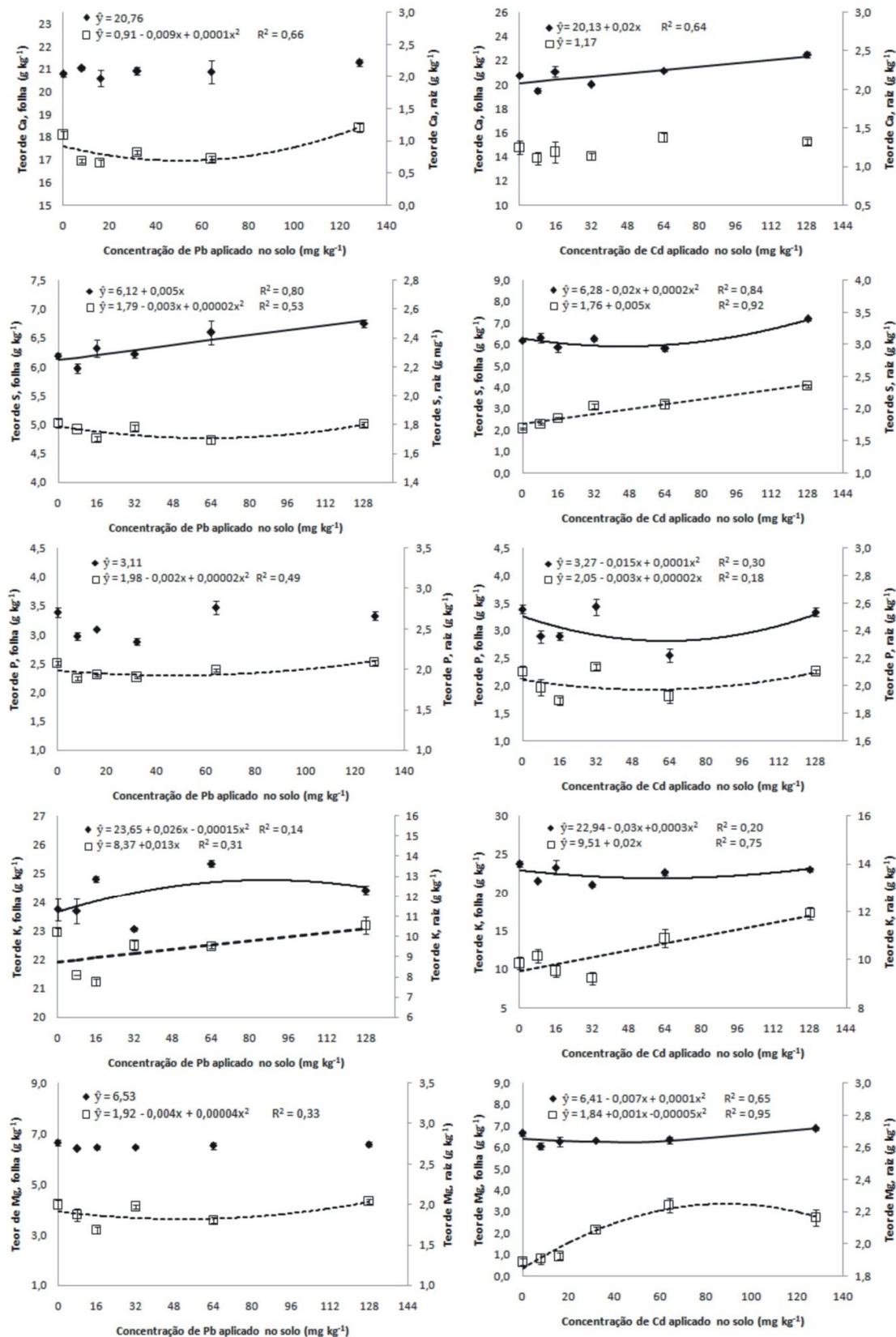


Figura 2. Teor de Ca, S, P, K e Mg em folhas (◆) e raízes (□) de *Mentha arvensis* submetidas às concentrações crescentes de Pb e Cd (Folha:—, Raiz:....).

Os micronutrientes de plantas submetidas às concentrações de Pb apresentaram resposta linear crescente para o teor de Zn nas raízes, enquanto em plantas expostas ao Cd, houve resposta linear crescente para os teores de Cu e Zn nas raízes e para o teor de Mn nas folhas, enquanto o teor de Fe nas folhas não apresentou efeito significativo ($p \leq 0,05$) com o aumento da concentração de Cd (Figura 3).

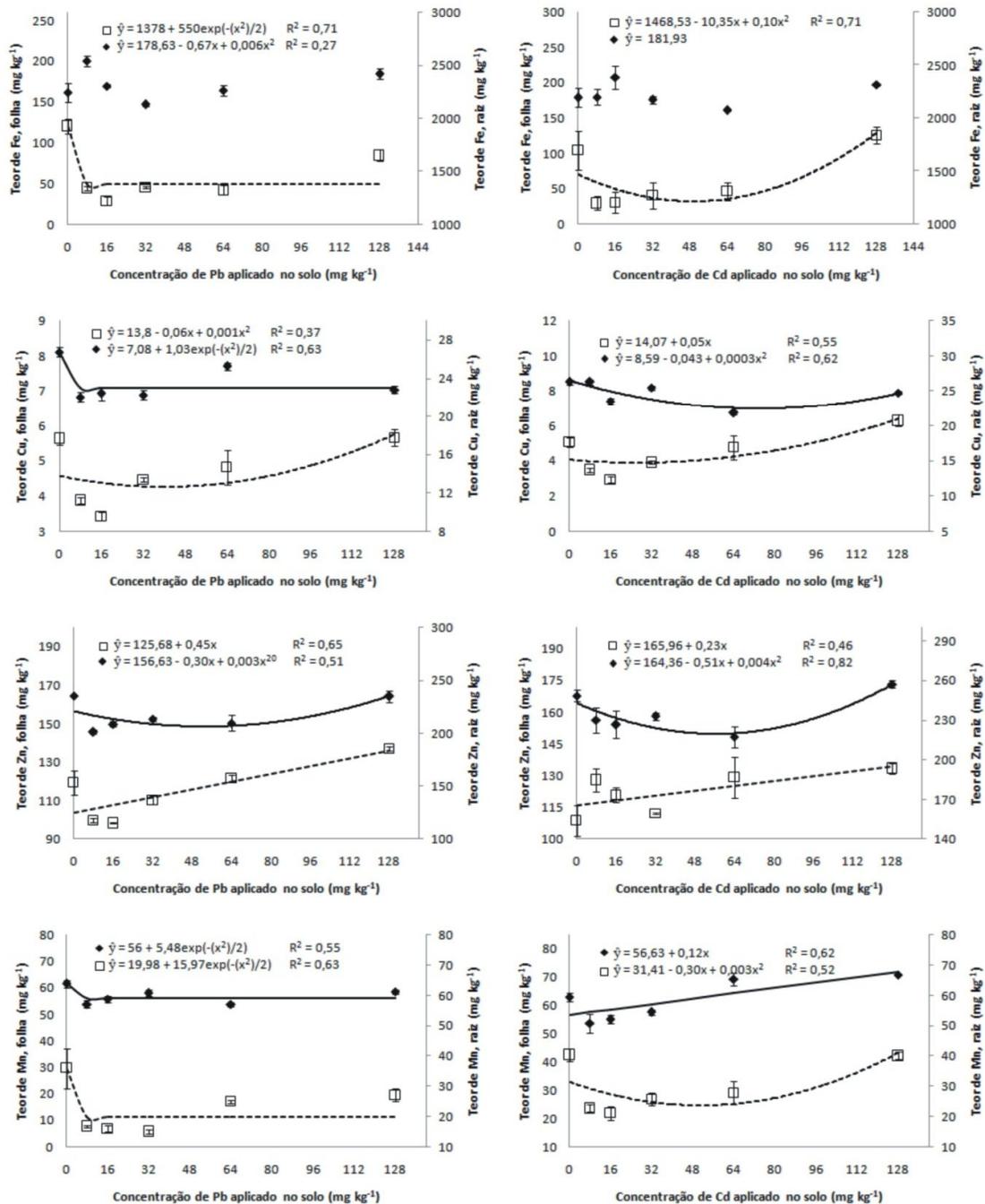


Figura 3. Teor de Fe, Cu, Zn e Mn em folhas (◆) e raízes (□) de *Mentha arvensis* submetidas às concentrações crescentes de Pb e Cd (Folhas:— ; Raiz:....).

4.3.4 Anatomia e ultraestrutura

Houve efeito significativo ($p \leq 0,05$) das concentrações de Pb e Cd aplicados ao solo sobre a espessura dos tecidos foliares de *M. arvensis* (Figura 4).

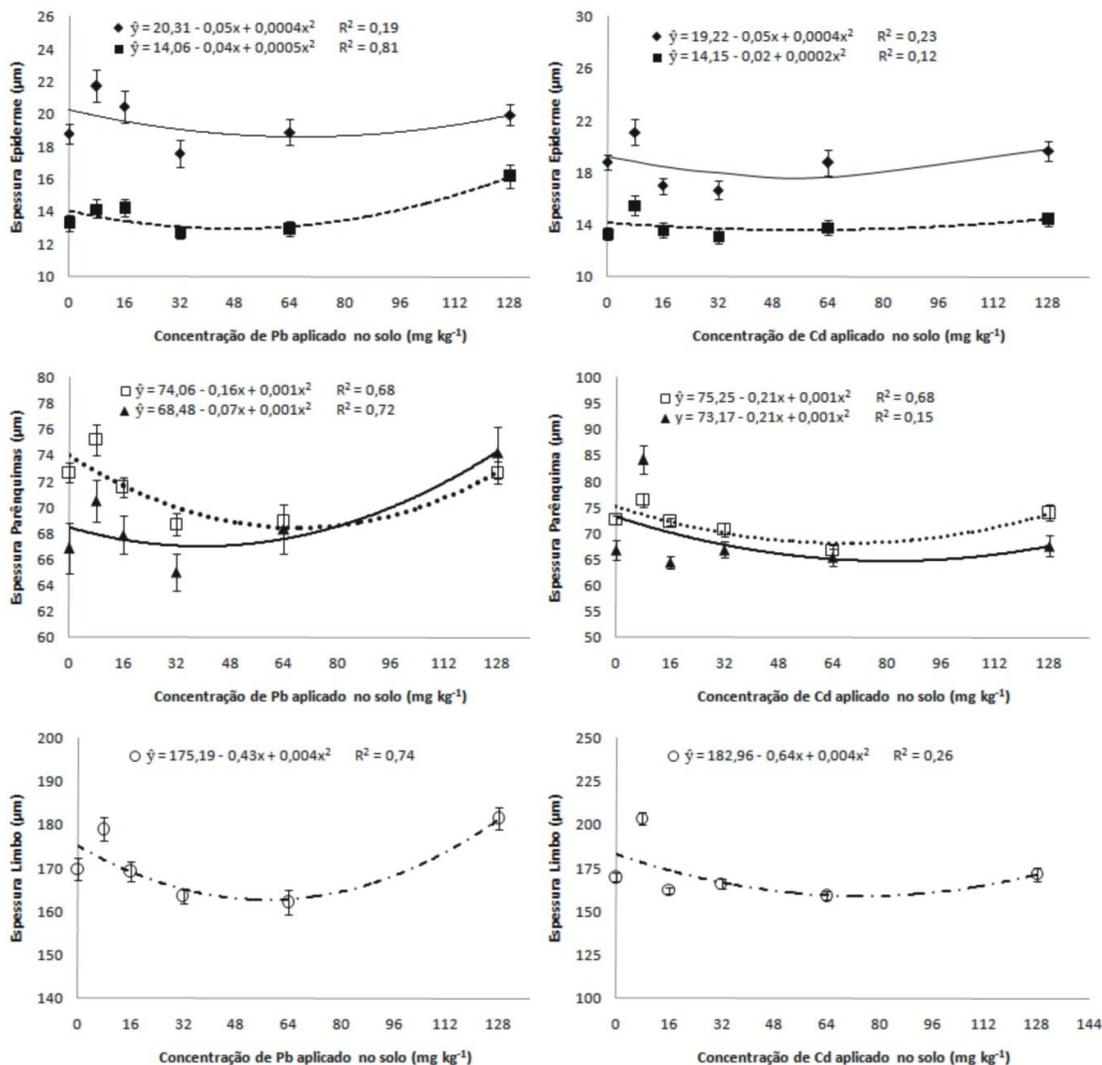


Figura 4. Espessura média (μm) dos tecidos foliares de *Mentha arvensis* sob concentrações crescentes de Pb e Cd. Espessura da epiderme adaxial (♦), epiderme abaxial (■), parênquima paliádico (□), parênquima lacunoso (▲), limbo (○).

A espessura da epiderme das faces adaxial e abaxial das folhas apresentou ajuste quadrático dos dados ($p \leq 0,05$). No entanto, apesar de significativa, pouca dessa variação pode ser explicada pelo aumento da concentração de Pb e Cd aplicados ao solo, exceto para a espessura da epiderme abaxial de folhas de plantas tratadas com Pb, em que 81 % da variação é atribuída à presença do metal. Já a

espessura dos parênquimas paliçádico e lacunoso apresentou resposta semelhante à epiderme, enquanto a redução do limbo foliar retratou as reduções observadas em cada tecido separadamente, sendo mais expressiva na concentração 64 mg kg^{-1} de Pb e Cd.

O aumento das concentrações de Pb e Cd aplicados ao solo apresentou efeito significativo ($p \leq 0,05$) apenas na densidade estomática da face abaxial das folhas, sem afetar significativamente esta densidade na face adaxial.

Apesar da baixa quantidade de Pb translocado para a folha, foi possível observar que quantidades mínimas do metal reduziram a densidade estomática, cujo valor inicial era de 306 estômatos (mm^2) no controle, para um valor mínimo de 243 estômatos (mm^2) na concentração 64 mg kg^{-1} , enquanto o aumento da concentração de Cd reduziu a densidade estomática para 248 estômatos (mm^2) na concentração 128 mg kg^{-1} (Figura 5). Comparado ao tratamento controle, nestas concentrações houve uma redução de 21% do número de estômatos em plantas tratadas com Pb e de 20% em plantas tratadas com Cd.

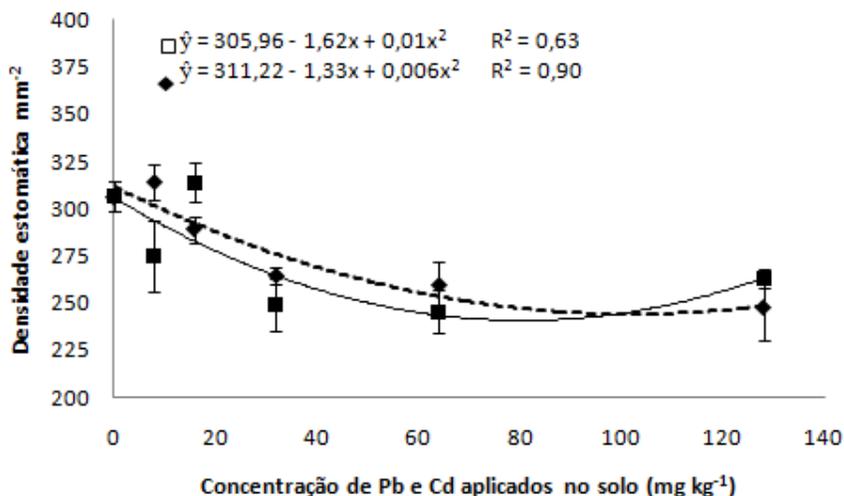


Figura 5. Densidade estomática (mm^2) da face abaxial de folhas de *Mentha arvensis* submetidas às concentrações crescentes de Pb (□) e Cd (◆) (Pb: —, Cd:).

Já nas raízes foi possível identificar o rompimento da parede celular de algumas células parenquimáticas, com formação de grandes espaços no córtex de plantas tratadas com Pb (Figura 6).

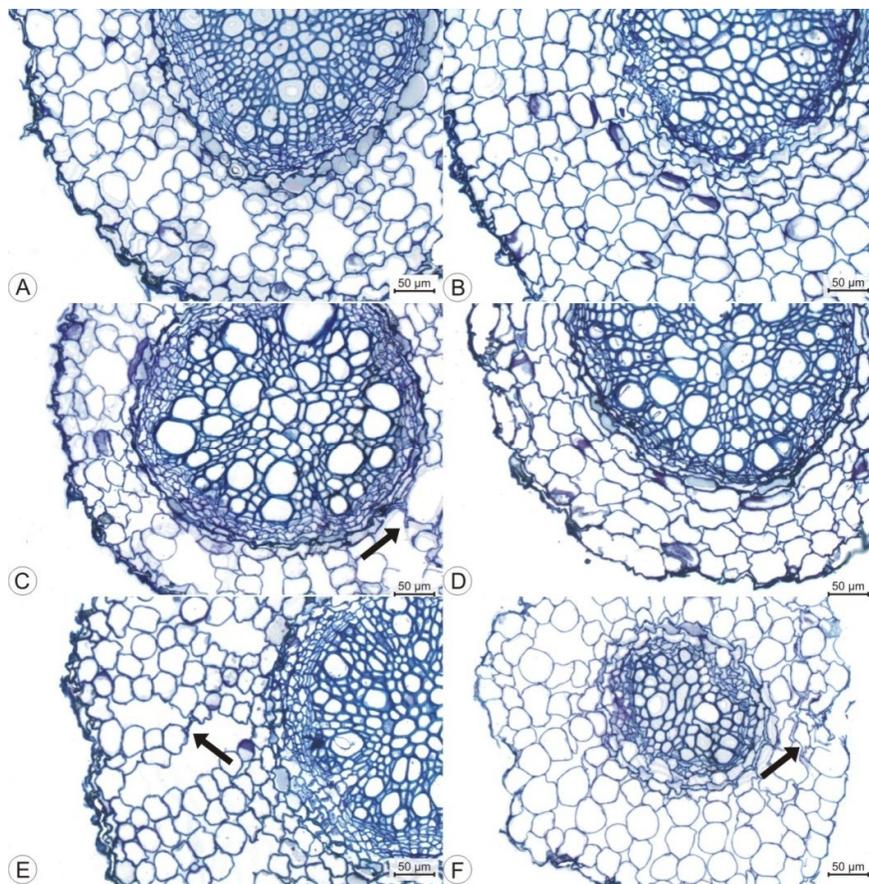


Figura 6. Seção transversal da raiz de *Mentha arvensis* cultivada sob concentrações crescentes de Pb no solo. (A) 0, (B) 8, (C) 16, (D) 32, (E) 64 e (F) 128 mg kg⁻¹. Setas indicam resquíios de parede celular.

Da mesma forma, nas raízes de plantas tratadas com Cd foi possível identificar rompimento da parede celular, formando grandes espaços no córtex. Na concentração de 8 mg (Cd) kg⁻¹ observou-se crescimento irregular de células do periciclo, além de deformação da epiderme nas concentrações 16 e 64 mg kg⁻¹ (Figura 7).

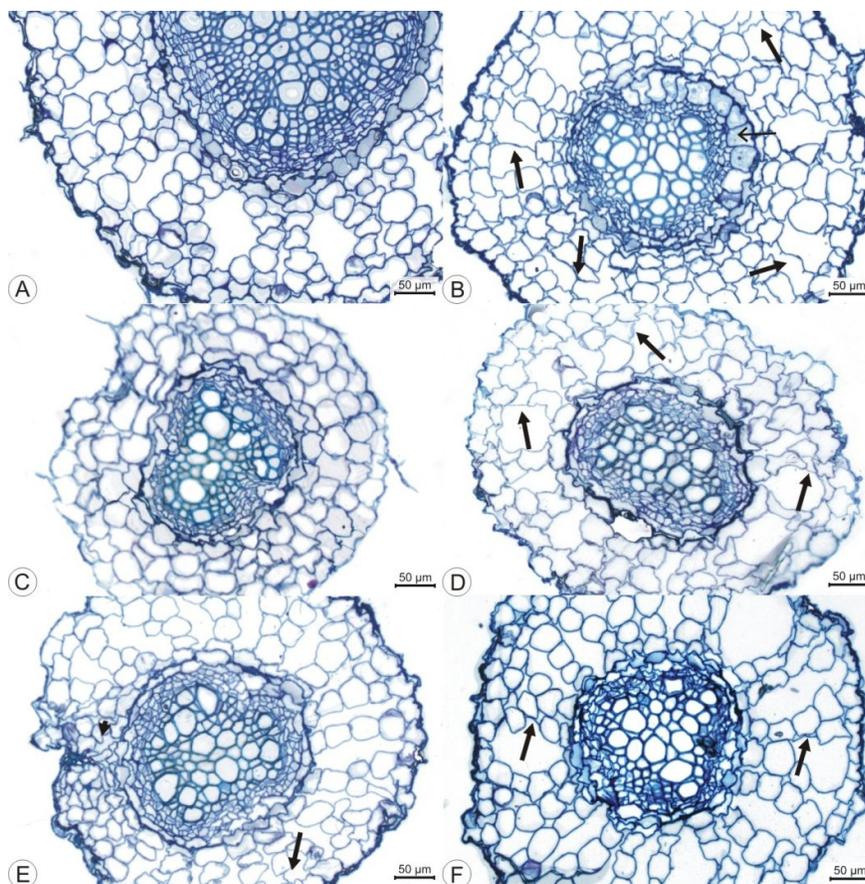


Figura 7. Seção transversal da raiz de *Mentha arvensis* cultivada sob concentrações crescentes de Cd no solo. (A) 0, (B) 8, (C) 16, (D) 32, (E) 64 e (F) 128 mg kg⁻¹. Setas grossas indicam resquícios de parede celular; seta fina indica crescimento irregular de células do periciclo.

Em nível ultraestrutural, nas células do parênquima paliádico de folhas de plantas sem aplicação de Pb e Cd foram observados cloroplastos com formato alongado, contendo grana evidente e bem estruturado. Alguns apresentaram grãos de amido de diversos tamanhos e plastoglóbulos. Sua localização ficou restrita às proximidades da parede celular e adjacências das mitocôndrias, todos apresentando contornos íntegros e sem evidência de alterações. O núcleo apresentou formato oval e volumoso e em formato esférico (Figura 8).

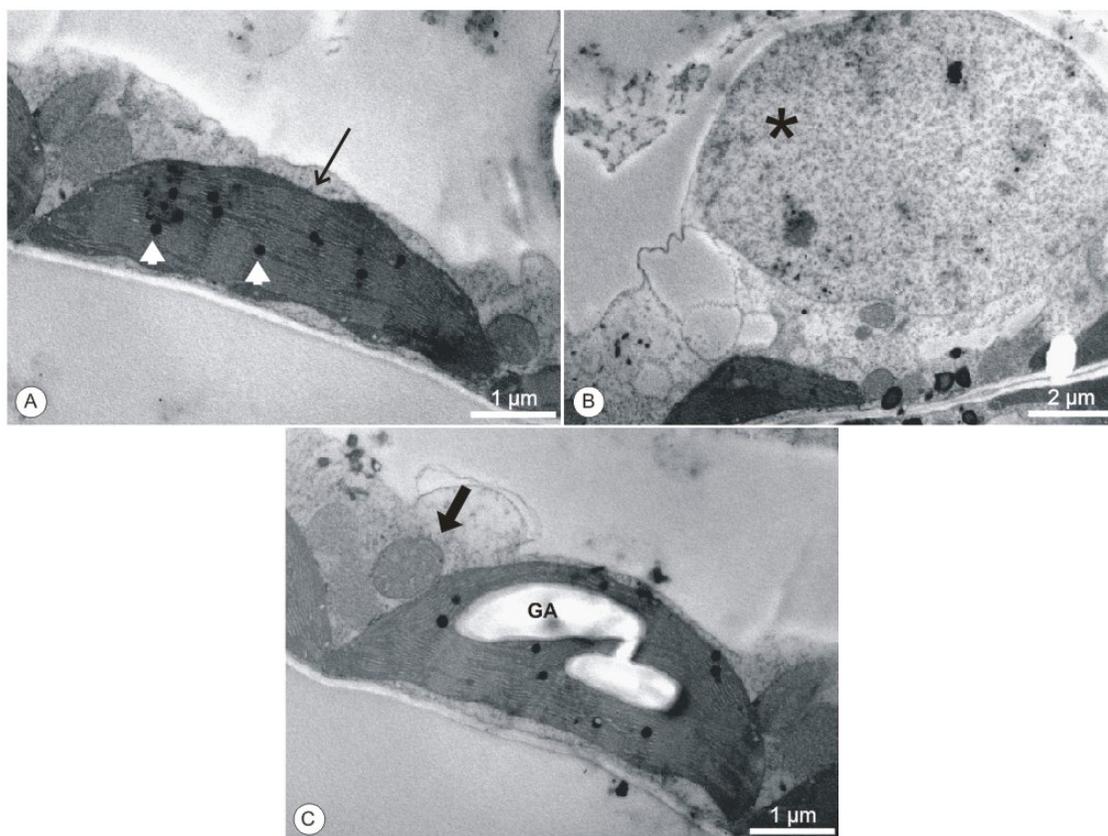


Figura 8. Fotomicrografia eletrônica de transmissão de células do parênquima paliçádico de *Mentha arvensis* sem adição de Pb e Cd, destacando: (A) cloroplasto (seta fina) e plastoglóbulos (cabeça de seta), (B) núcleo (asterisco), (C) mitocôndrias (seta grossa) e grãos de amido (GA).

Por outro lado, nas mesmas células de plantas cultivadas com 128 mg kg^{-1} de Pb, foram observadas diversas alterações como invaginação da parede celular e do núcleo, além de depósitos eletrodensos na membrana de mitocôndrias (Figura 9).

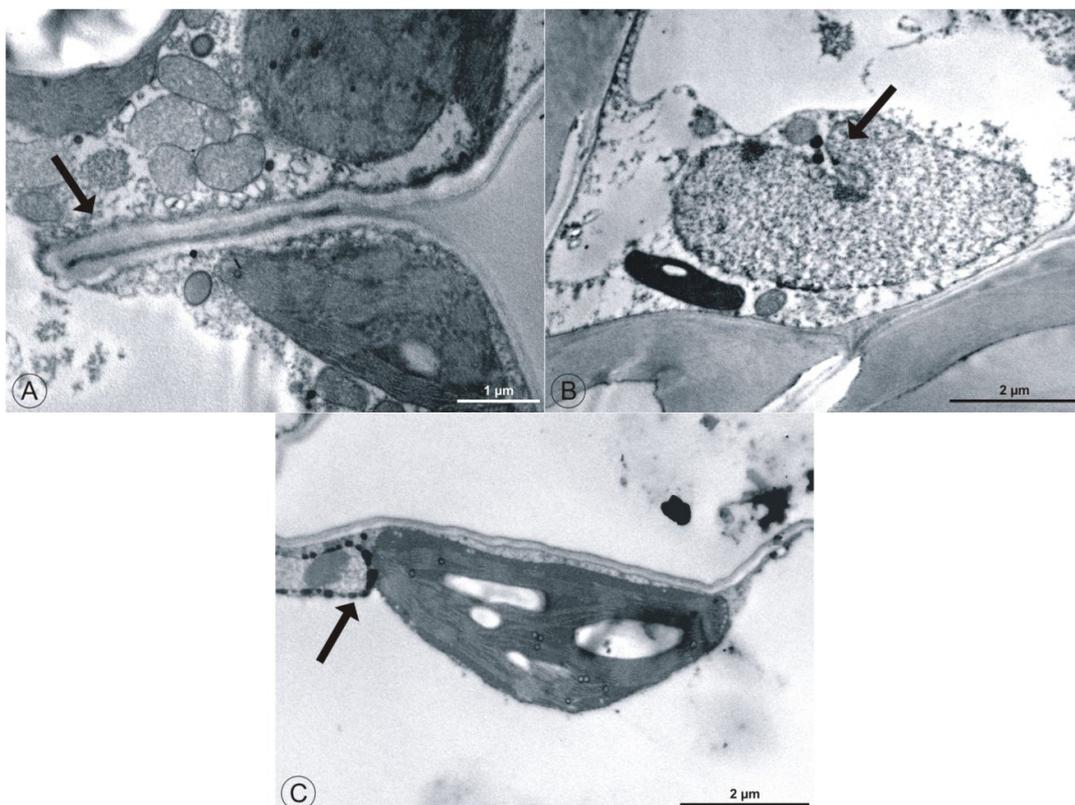


Figura 9. Fotomicrografia eletrônica de transmissão de células do parênquima paliçádico de *Mentha arvensis* cultivada em solo contendo $128 \text{ mg (Pb) kg}^{-1}$, destacando: (A) invaginação do núcleo celular (seta), (B) invaginação da parede celular (seta), (C) deposição de material eletrodenso ao redor da mitocôndria (seta).

Já nas plantas tratadas com 128 mg kg^{-1} Cd observou-se depósitos eletrodensos ao redor do núcleo e de mitocôndrias, (Figura 10).

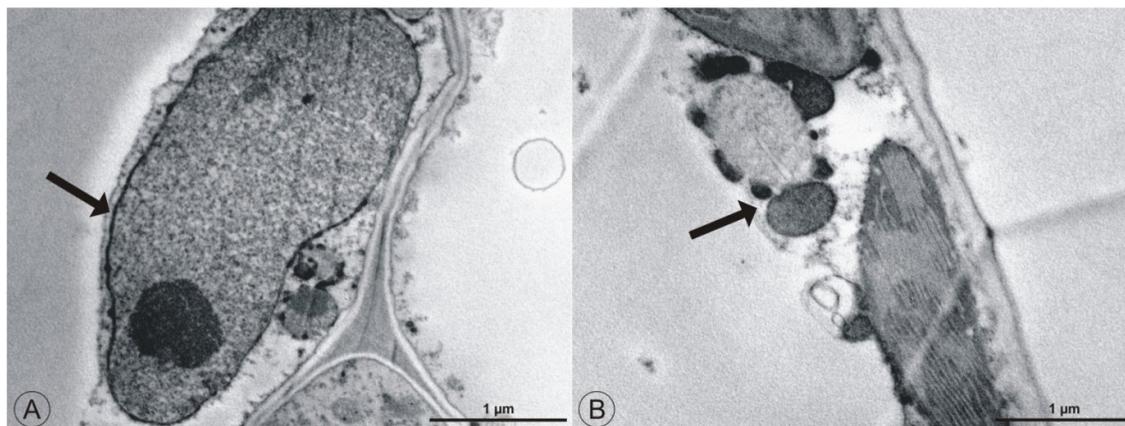


Figura 10. Fotomicrografia eletrônica de transmissão de células do parênquima paliçádico de *Mentha arvensis* cultivada em solo contendo $128 \text{ mg (Cd) kg}^{-1}$, destacando: (A) deposição de material eletrodenso na membrana nuclear (seta) e (B) ao redor das mitocôndrias (seta).

4.3.1 Avaliação do crescimento

Nenhuma das variáveis de crescimento analisadas apresentou efeito significativo ($p \leq 0,05$) das doses crescentes de Pb e Cd aplicados ao solo, demonstrando valores semelhantes àqueles obtidos para as plantas sem aplicação dos metais (Tabela 1).

Tabela 1. Médias das variáveis de crescimento da espécie *Mentha arvensis* tratada com Pb e Cd aplicados separadamente ao solo \pm erro padrão ($p \leq 0,05$).

Variáveis analisadas	Controle	Metais tóxicos	
		Pb	Cd
ALT (cm)	37,50 \pm 0,47 a	37,58 \pm 0,26 a	37,26 \pm 0,43 a
DIAM (cm)	3,90 \pm 0,07 a	4,09 \pm 0,11 a	4,15 \pm 0,07 a
NF (und)	378 \pm 11 a	411 \pm 7 a	388 \pm 8 a
AF (cm²)	3653 \pm 126 a	3700 \pm 51 a	3560 \pm 56 a
MST (g)	18,25 \pm 0,82 a	20,06 \pm 0,50 a	18,84 \pm 0,43 a
MSF (g)	8,27 \pm 0,35 a	9,03 \pm 0,20 a	8,54 \pm 0,17 a
MSC (g)	8,01 \pm 0,53 a	9,02 \pm 0,28 a	8,26 \pm 0,26 a
MSR (g)	1,97 \pm 0,05 a	2,01 \pm 0,06 a	2,03 \pm 0,06 a
MFE (g cm²)	0,00230 a	0,00240 \pm 0,00004 a	0,00240 \pm 0,00004 a
RAF (cm² g⁻¹)	200,81 \pm 6,08 a	186 \pm 3 a	191 \pm 4 a

Altura (ALT), diâmetro do caule (DIAM), número de folhas (NF), área foliar (AF), peso da biomassa seca de folha (MSF), caule (MSC), raiz (MSR) e total (MST), razão de massa foliar (RMF), de caule (RMC) e de raiz (RMR), massa foliar específica (MFE) e razão de área foliar (RAF). *Médias seguidas pela mesma letra minúscula entre colunas não diferem estatisticamente entre si ($p \leq 0,05$).

Além disto, as plantas apresentaram crescimento vigoroso, homogêneo e sem sintomas visuais de toxicidade, afirmando a ausência de efeitos das concentrações crescentes de Pb e Cd sobre o crescimento das plantas (Figura 11).



Figura 11. Espécie *Mentha arvensis* em diferentes estádios de desenvolvimento, sob concentrações crescentes de Pb e Cd aplicados separadamente ao solo. (A) No dia da aplicação dos metais, (B) 7 dias, (C) 10 dias, (D) 30 dias e (E) 40 dias após aplicação dos metais.

4.3.2 Teor, rendimento e composição química de óleo essencial

As concentrações crescentes de Pb e Cd não alteram significativamente ($p \leq 0,05$) o teor e o rendimento médio de óleo essencial de *M. arvensis* (Tabela 2).

Tabela 2. Teor e rendimento médio de óleo essencial de *Mentha arvensis* tratada com Pb e Cd aplicados separadamente ao solo \pm erro padrão ($p \leq 0,05$).

	Controle	Metais tóxicos	
		Pb	Cd
Teor (%)	3,97 \pm 0,20 a	4,43 \pm 0,09 a	4,39 \pm 0,08 a
Rendimento (g planta ⁻¹)	0,32 \pm 0,02 a	0,39 \pm 0,01 a	0,38 \pm 0,01 a

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula entre colunas não diferem estatisticamente entre si ($p \leq 0,05$).

De forma semelhante, a aplicação de Pb e Cd no solo também não alterou expressivamente a composição química do óleo essencial, apresentando apenas pequenas variações sem tendência clara. A análise cromatográfica dos óleos essenciais permitiu a identificação de 9 componentes voláteis, totalizando cerca de 99% da composição química, os quais foram divididos em hidrocarbonetos alifáticos (3-octanol), monoterpenos (limoneno), monoterpenos oxigenados (neo-isopulegol, isomentona, mentona, mentol, pulegona e carvotanacetona) e sesquiterpenos (E-cariofileno) (Tabela 3).

Tabela 3. Porcentagem relativa dos constituintes do óleo essencial de folhas de *Mentha arvensis* submetidas às concentrações crescentes de Pb e Cd aplicados separadamente no solo.

Componente	IK ¹	Concentração de metais tóxicos aplicados ao solo (mg kg ⁻¹)										
		Pb						Cd				
		0	8	16	32	64	128	8	16	32	64	128
3-octanol	995	0,83	0,87	0,88	0,79	0,84	0,84	0,86	0,87	0,83	0,88	0,82
limoneno	1033	0,59	0,64	0,65	0,86	0,77	0,94	0,57	-	0,67	0,87	0,75
neo-isopulegol	1153	0,56	0,57	0,55	0,55	0,55	0,54	-	0,55	0,54	0,56	0,56
isomentona	1161	4,40	4,54	4,38	4,77	4,55	5,00	3,57	4,08	4,37	4,50	4,00
mentona	1171	2,11	2,20	2,19	2,19	2,28	2,36	2,21	2,27	2,23	2,25	2,23
mentol	1174	88,4	87,5	88,2	87,2	87,7	86,8	89,5	88,2	87,2	87,8	88,9
pulegona	1244	1,57	2,27	1,56	2,07	1,80	1,86	1,06	1,36	2,54	1,55	1,03
carvotanacetona	1259	0,99	0,89	0,97	0,95	0,96	1,02	1,01	1,11	0,97	1,00	1,03
E-cariofileno	1425	0,50	0,46	0,55	0,54	0,52	0,58	0,57	0,64	0,58	0,58	0,61
Total		99,9	99,9	99,9	100,0	100,0	99,9	99,9	99,1	100,0	99,9	99,9

IK¹: Índice Kovats.

O componente majoritário do óleo essencial de todas as plantas tratadas com concentrações crescentes Pb ou Cd foi o mentol, responsável por mais de 86% da composição química do óleo essencial de *M. arvensis*, e comparado ao tratamento controle, a concentração do constituinte majoritário não variou mais do que 2% com a aplicação dos metais no solo.

4.4 Discussão

A classificação das plantas de acordo com a capacidade para acumular metais tóxicos é descrita por Seregin e Ivanov (2001), os quais as dividem em três grupos: as acumuladoras, que concentram maior quantidade de metal em seus tecidos independente da concentração alta ou baixa destes no solo; as indicadoras, que acumulam a mesma quantidade de metal existente no ambiente; e as excludoras, que mantêm baixa a concentração de metal em seus tecidos mesmo em ambientes com altas concentrações destes. A quantidade de Pb e Cd presentes originalmente no solo antes da aplicação dos metais foi considerada normal, uma vez que a média calculada para a superfície mundial é de 15 e 0,53 mg kg⁻¹, respectivamente (KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 2000), e portanto, a quantidade destes metais tóxicos absorvida pelos tecidos vegetais caracteriza a espécie *M. arvensis* como acumuladora de Pb e Cd.

Apesar do Pb e do Cd poderem interferir de maneira desfavorável na absorção de macro e micronutrientes por meio de mecanismos como desordens causadas no metabolismo celular alterando a atividade enzimática e a estrutura da membrana (SEREGIN, IVANOV, 2001), a variação nutricional observada em *M. arvensis* com o aumento das concentrações de Pb e Cd aplicados ao solo não foi suficiente para interferir no valor médio de nutrientes necessários para o crescimento adequado da planta (KERBAUY, 2004). Outros relatos ainda indicam que alguns elementos tóxicos podem competir pelos sítios de ligação de carreadores presentes na membrana plasmática que são utilizados por elementos essenciais para o crescimento da planta, causando redução da absorção destes elementos (ARDUINI et al., 1998).

Quanto às características anatômicas de *M. arvensis* expostas ao Pb e ao Cd, observou-se maior compactação dos tecidos foliares, resquícios de parede celular em raízes e crescimento anormal de células do periciclo. As espécies vegetais podem responder diferentemente quanto às modificações estruturais das folhas, sendo descritas como específicas de cada metal e independente das concentrações em que as plantas são tratadas (SHI; CAIA, 2009). Já as alterações na parede celular podem resultar da desorganização das microfibrilas de celulose causando a perda das características da célula e conseqüente rompimento desta (PRASAD, 2004), resultado este atribuído à presença dos metais. Já o crescimento irregular

das células do periciclo podem também estar associado à influência do Cd que é responsável por afetar a proporção relativa do tamanho dos tecidos e dos tipos de células (LUX et al., 2011).

Apesar da alteração na densidade estomática na presença de metais tóxicos poder ser explicada como uma estratégia compensatória à redução da área foliar útil (GOMES et al., 2011), isto não foi verificado em folhas de *M. arvensis*, as quais mantiveram a área foliar independente da concentração dos metais aplicados ao solo.

Os metais tóxicos podem causar também alterações em nível estrutural, como modificações nas membranas internas dos cloroplastos, geralmente associada ao processo de peroxidação lipídica (VASSILEV et al., 2004), da mesma forma que a dilatação das membranas tilacóides (DJEALI et al., 2005). No entanto, apesar dessas alterações estarem diretamente relacionadas com a atividade fotossintética da planta, elas não foram suficientes para causar interferências que afetassem o crescimento destas.

A avaliação de variáveis de crescimento é o método mais apropriado para verificar diferenças no crescimento das plantas, sejam elas de caráter genético ou resultantes de modificações ambientais, e por este motivo foi utilizada para analisar o efeito das concentrações crescentes Pb e Cd sobre o crescimento de *M. arvensis*. Como esta análise baseia-se fundamentalmente na idéia de que cerca de 90% da matéria seca acumulada resulta da atividade fotossintética (BENICASA, 2003), é possível inferir que estas plantas não demonstraram alterações expressivas no crescimento e não apresentaram sintomas característicos de toxicidade, mesmo quando expostas a altas concentrações dos metais. Apesar disto, sabe-se que os metais tóxicos podem ser responsáveis pela limitação do crescimento de algumas plantas por meio da redução da biomassa seca ou fresca destas, do alongamento das raízes ou dos demais órgãos, redução da área foliar, inibição da abertura estomática e desordens na nutrição mineral (PRASAD, 1995; ARDUINI et al., 1998; RAI et al., 2005; SHARMA, DUBEY, 2005; PANDEY, GRUPTA, MUKHERJEE, 2007).

Resultados semelhantes também foram encontrados para o óleo essencial, que é formado a partir do metabolismo secundário das plantas, o qual está intimamente relacionado com o metabolismo primário destas e cuja produção é regulada por fatores genéticos e ambientais (CASTRO et al., 2004). Mesmo em condições desfavoráveis de alta contaminação, o desenvolvimento da planta e a

produção de óleo essencial não foram afetados. A alteração na composição química de óleo essencial na presença de metais tóxicos pode ser descrita pela perda ou inativação de enzimas específicas e danos nos processos biossintéticos de produção dos metabólitos secundários, principalmente por causa da mobilidade dos metais dentro das plantas (NASIM; DHIR, 2010), alteração esta que não foi claramente observada em *M. arvensis*.

A ausência de fitotoxicidade destes metais e consequente manutenção do rendimento médio de óleo essencial são atribuídas por alguns autores à presença de elevado teor de matéria orgânica no solo, reduzindo a disponibilidade destes metais para as plantas (ZHELJAZKOV et al., 2006). No entanto, apesar do crescimento e produção de óleo essencial de *M. arvensis* terem sido preservados com o aumento da concentração dos metais, a espécie acumulou alta quantidade de Pb e Cd em seus tecidos, todos em concentrações superiores àquelas consideradas normais ao metabolismo vegetal (KABATA-PENDIAS, PENDIAS, 2000). A baixa translocação de Pb para a parte aérea de *M. arvensis* é um fator positivo do ponto de vista econômico para a espécie, uma vez que, normalmente esta é a parte utilizada para a extração de óleo essencial. Enquanto o Cd apresentou alta concentração do metal nas folhas, tornando inviável a utilização da planta *in natura*, tendo em vista o potencial extrator de metais tóxicos por determinadas formas de utilização das plantas medicinais (ABOU-ARAB, ABOU DONIA, 2000). Ainda assim, ressalta-se o perigo do acúmulo de metais em *M. arvensis* sem demonstrar sinais característicos de toxicidade, representando risco potencial para humanos e animais (OLIVER, 1997).

4.5 Conclusão

A espécie *M. arvensis* foi considerada acumuladora de Pb e Cd, pois absorveu quantidades significativas dos metais em seus tecidos, em concentrações maiores nas raízes do que nas folhas, e apesar de afetar a absorção de alguns macro e micronutrientes e de aspectos anatômicos em nível tissular e celular, a espécie não apresentou nenhuma alteração em seu crescimento, nem na produção e qualidade do óleo essencial.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O incremento de metal tóxico no solo e a consequente absorção destes pelas plantas caracteriza uma situação comum previamente descrita em diferentes trabalhos. O nível de metal tóxico e o tempo de exposição a qual a planta é submetida, bem como sua capacidade para absorver e translocar estes elementos para os demais órgãos vegetativos pode prejudicar a produção vegetal e afetar diretamente os produtores.

As plantas aromáticas cultivadas sob condições de contaminação por metais tóxicos podem apresentar alterações qualitativas e quantitativas no óleo essencial, diferente do que foi observado para *M. arvensis*, que mesmo cultivada sob altas concentrações de Pb e Cd não apresentou sintomas característicos de toxicidade e absorveu concentrações consideradas críticas para o metabolismo vegetal sem afetar a produção e a qualidade do óleo essencial produzido. Desta forma, o cultivo de *M. arvensis* com a finalidade de produção de óleo essencial pode ser realizado como alternativa para ambientes contaminados com os metais tóxicos Pb e Cd, tendo em vista o crescimento normal da planta, mesmo sob condições adversas.

Por outro lado, a utilização da espécie para fins medicinais deve ser evitada, pois apesar da baixa translocação dos metais tóxicos para as folhas (órgão vegetativo utilizado *in natura*), a concentração de Cd neste órgão foi superior ao limite determinado pela WHO.

REFERÊNCIAS

ABOU-ARAB, A.A.K.; ABOU DONIA, M.A. Heavy metals in Egyptian Spices and medicinal plants and the effect of processing on their leaves. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v.48, p.2300-2304, 2000.

ADAMS, R.P. 2007. **Identification of essential oils components by gas chromatography mass spectroscopy**. 4th, Allured Publishing Corporation, Carol Stream, Illinois, USA, 804p.

ARDUINI, L.; GODBOLD, D.L.; ONNIS, A.; STEFANI, A. Heavy metals influence mineral nutrition of tree seedlings. **Chemosphere**, v.36, n.4-5, p.739-744, 1998.

BENICASA, M.M.P. 2003. **Análise de crescimento de plantas (noções básicas)**. 2. ed. Jaboticabal: FUNEP, 41p.

CALDAS, E.D.; MACHADO, L.L. Cadmium, mercury and lead in medicinal herbs in Brazil. **Food and Chemical Toxicology**, v.42, p. 599-603, 2004.

CASAS, J.S.; SORDO, J. (eds.) 2006. Lead: chemistry, analytical aspects, environmental impact and health effects. Editora Elsevier, The Netherlands. 354p.

CASTRO, H.G. et al. 2004. **Contribuição ao estudo das plantas medicinais: metabólitos secundários**. 2. ed. Visconde do Rio Branco, 113p.

DAS, P.; SAMANTARAY, S.; ROUT, G.R. Studies on cadmium toxicity in plants: a review. **Environmental Pollution**, v.98, n.1, p.29-36, 1997.

DJEBALI, W.; ZARROUK, M.; BROUQUISSE, R.; KAHOUI, E.; LIMAM, F.; GHORBEL, M.H.; CHAÏBI, W. Ultrastructure and lipid alterations induced by cadmium in tomato (*Lycopersicon esculentum*) chloroplast membranes, **Plant Biology**, v.7, p.358-368, 2005.

FAHN, A. Secretory tissues in vascular plants. **New Physiology**. v.108, p229-257, 1988.

GOMES, M.P.; MELO-MARQUES, T.C.L.L.S.; NOGUEIRA, M.O.G.; CASTRO, E.M.; SOARES, A.M. Ecophysiological and anatomical changes due to uptake and accumulation of heavy metal in *Brachiaria decumbens*. **Scientia Agrícola**, v.68, n.5, p.566-573, 2011.

HUNT, R. 1990. **Basic Growth Analysis: Plant Growth Analysis for Beginners**. 1st Ed., Unwin Hyman, Boston, London, 112p.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soils and plants**. 3rd ed. 331p. 2000.

KASIM, W.A. Changes induced by copper and cadmium stress in the anatomy and grain yield of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. **International Journal of Agriculture & Biology**, v.8, n.1, 2006.

KERBAUY, G.B. **Fisiologia Vegetal**, Editora Guanabara Koogan, 2004. 452p.

LUX, A.; MARTINKA, M.; VACULÍK, M.; WHITE, P.J. Root responses to cadmium in the rhizosphere: a review. **Journal of Experimental Botany**, v.62, n.1, p.21-37, 2011.

NASIM, S.A.; DHIR, B. Heavy metal alter the potential of medicinal plants. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, v.203, p.139-149, 2010.

OLIVER, M.A. Soil and human health: a review. **European Journal of Soil Science**, v.48, n.4, p.573-592, 1997.

OUZOUNIDOU, G.; ELEFThERIOU, M.E.P. Physiological and ultrastructural effects of cadmium on wheat (*Triticum aestivum* L.) leaves. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v.32, p.154-160, 1997.

PANDEY, S.; GRUPTA, K.; MUKHERJEE, A. K. Impact of cadmium and lead on *Catharanthus roseus* - A phytoremediation study. **Journal of Environmental Biology**, v.28, n.3, p.655-662, 2007.

PRASAD, M.N.V. Cadmium toxicity and tolerance in vascular plants. **Environmental and Experimental Botany**, v.35, n.4, p.525-545, 1995.

PRASAD, M.N.V. 2004. **Heavy metal stress in plants: from biomolecules to ecosystems**. 2nd ed. Narosa Publishing House, 22 Daryaganj, New Delhi, 462p. Disponível em: http://books.google.com.br/books?id=LmjqrKXXP1cC&printsec=frontcover&hl=pt-BR&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false. Acesso em: 28 jan 2012.

RAI, V.; KHATOON, S.; BISHT, S.S.; MEHROTRA, S. Effect of cadmium on growth, ultramorphology of leaf and secondary metabolites of *Phyllanthus amarus* Schum. and Thonn. **Chemosphere**, v.61, p.1644-1650, 2005.

SANGWAN, N.S.; FAROOQI, A.H.A.; SHABIH, F.; SANGWAN, R.S. Regulation of essential oil production in plants. **Plant Growth Regulation**, v.34, p.3-21, 2000.

SANITÁ DI TOPPI, L.; GABBRIELLI, R. Response to cadmium in higher plants. **Environmental and Experimental Botany**, v.41, p.105-130, 1999.

SEREGIN, I.V.; IVANOV, V.B. Physiological aspects of cadmium and lead toxic effects on higher plants. **Russian Journal of Plant Physiology**, v.48, n.4, 2001.

SHARMA, P.; DUBEY, R.S. Lead toxicity in plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v.17, n.1, p.35-52, 2005.

SHI, G.; CAIA, Q. Leaf plasticity in peanut (*Arachis hypogaea* L.) in response to heavy metal stress. **Environmental and Experimental Botany**, v.67, p.112-117, 2009.

SILVA, A.S. 2011. **Óleos essenciais: uma abordagem econômica e industrial**. Rio de Janeiro: Interciência, 386p.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. 2008. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II**, 2. ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 703p.

TUNG, G.; TEMPLE, P.J. Uptake and localization of lead in corn (*Zea mays* L.) seedlings, a study by histochemical and electron microscopy. **The Science of the Total Environment**, v.188, p.71-85, 1996.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P. D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography, **Journal of Chromatography**, USA, v.11, p.463-471, 1963.

VASSILEV, A.; LINDON, F.; SCOTTI, P.; GRAÇA, M.; YORDANOV, I. Cadmium-induced changes in chloroplast lipids and photosystem activities in barley plants. **Biologia Plantarum**, v.48, n.1, p.153-156, 2004.

ZHELJAZKOV, V.D.; CRAKER, L.E.; XING, B. Effects of Cd, Pb, and Cu on growth and essential oil contents in dill, peppermint, and basil. **Environmental and Experimental Botany**, v.58, p.9-16, 2006.