

FITOTOXICIDADE INDUZIDA PELA CO-EXPOSIÇÃO À NANOPARTÍCULAS DE DIÓXIDO DE TITÂNIO E ARSÊNIO NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE ALFACE CRESPA (*L. SATIVA* VAR. *CRISPA*)

**PABLO ESPINOSA GILL¹; ANDREIA NUNES²; GABRIEL EBERL DA FONSECA²;
SILVANA MANSKE NUNES³; JULIANE VENTURA-LIMA³; FLÁVIO MANOEL R.
DA SILVA-JÚNIOR⁴**

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde - FURG – pablo.espinosa.gill@gmail.com

² Tecnologia em Toxicologia Ambiental - FURG – deyknunessm@yahoo.com.br

³ Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas – FURG- silvanamnu@gmail.com

⁴ Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde- FURG – f.m.r.silvajunior@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

O uso de nanopartículas de dióxido de titânio (N-TiO₂) tem aumentado nos últimos anos, em diversas aplicações tecnológicas, sendo incluídas em formulações de protetor solar, componente de goma de mascar e também como pigmento para o clareamento de tintas. No entanto, há uma grande preocupação em relação à sua segurança em relação à toxicidade (Kaegi et al., 2008; Rui et al., 2013). De um ponto de vista ecotoxicológico, o risco dos nanomateriais no ecossistema para a saúde, depende tanto da toxicidade inerente deste tipo de composto, bem como a sua probabilidade para chegar ao ambiente. A detecção de nanomateriais no ambiente tem sido considerado um desafio analítico (Handy et al., 2008).

A toxicidade dos nanomateriais ainda é discutível. Tomando como exemplo o nanomaterial de fulereno de carbono, autores como Henry et al. (2011) consideram que a sua toxicidade através da geração oxidativo é quase insignificante em suspensão aquosa, embora levantada a possibilidade de efeitos deletérios do fulereno, induzidos em virtude da sua capacidade de adsorver a outros contaminantes e, desta forma afetando o destino, o transporte e biodisponibilidade do co-contaminante, uma situação para a qual Limbach et al. (2007) cunhou o termo efeito de 'Cavalo de Tróia'. No caso dos nanomateriais de carbono como fulereno, o estudo de Costa et al. (2012) mostrou que a co-exposição deste nanomaterial com Arsênio (As), favoreceu o acúmulo de metalóide em Zebrafish (*Danio rerio*). No caso específico de N-TiO₂, Sun et al. (2009) relataram que este nanomaterial aumentava a incorporação de Arsênio nas brânquias, vísceras e muscular de peixes da espécie *Cyprinus carpio*.

É bem sabido que fatores abióticos como força iônica, favorecem os nanomateriais em sua aglomeração e eventualmente em sua deposição. Autores como Baun et al. (2008) e Navarro et al. (2008) consideram alguns cenários ambientais, onde a associação de nanomateriais com matéria orgânica favorecem a sua deposição e, em seguida, torna-se disponível para o meio ambiente.

Investigações sobre a ecotoxicologia das nanopartículas, também já foram realizados, com o objetivo de avaliar os seus efeitos nocivos para o ecossistema (Zhu et al, 2006; Blaise et al., 2008). Trabalhos anteriores mostraram que N-TiO₂ possui efeito tóxico e inibi o crescimento de microalgas (*Pseudokirchneriella subcapitata*) (Aruoja et al., 2009), crustáceos (*Daphia magna*) e bactérias (*Vibrio fischeri*) (Heinlaan et al., 2008).

Tendo em vista a carência de estudo de toxicidade das N-TiO₂ em co-exposição com o Arsênio, o objetivo deste trabalho foi avaliar a sua fitotoxicidade em alface crespa (*L. Sativa* var. *crispa*).

2. METODOLOGIA

2.1 Obtenção e Caracterização das N-TiO₂

As nanopartículas de dióxido de titânio (99,9% de pureza, estrutura de cristal rutilo) foram adquiridas da Sigma-Aldrich. A solução estoque de N-TiO₂ foi preparada e caracterizada na concentração de 10g/L em um volume de 50mL conforme o estudo de Cordeiro et al. (2015).

2.2 Delineamento experimental

Em triplicata, placas de Petri com papel filtro Whatman Nº1 foram colocadas vinte sementes de alface crespa (*L. Sativa var. crispa*). Foi adicionado 4mL em cada triplicata das seguintes concentrações : Controles: H₂O-Milli-Q; N-TiO₂ 10mg/L e 100mg/L; As 1,0 µg/L; As 10 µg/L; As 100 µg/L. Co-exposição: N-TiO₂ 10mg/L (concentração não tóxica) + As 1,0 µg/L; N-TiO₂ 10mg/L (concentração não tóxica) + As 10 µg/L; N-TiO₂ 10mg/L (concentração não tóxica) + As 100 µg/L

O experimento foi realizado no escuro em uma câmara de BOD na temperatura de 20°C. Após 5 dias de incubação, a germinação das sementes, o alongamento da raiz e o índice de germinação foram determinados.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos de fitotoxicidade para as concentrações testadas no alface crespa (*L. Sativa var. crispa*) são mostrados na Tabela 1, 2 e 3 respectivamente.

Tabela 1: Efeito da concentração de N-TiO₂ na germinação e alongamento de raiz da alface crespa.

Concentração N-TiO ₂ (mg/L)	Germinação(%)	Alongamento de plântulas (cm)
0	100	4,76
10	100	4,59
100	100	3,16

1- *L.Sativa Var. Crispa*

Tabela 2: Efeito da concentração de As na germinação e alongamento de raiz da alface crespa.

Concentração As (µg/L)	Germinação(%)	Alongamento de plântulas (cm)
0	100	4,76
1	100	2,20
10	90	0,80
100	0	0,00

1- *L.Sativa Var. Crispa*

Tabela 3: Efeito da co-exposição de As e N-TiO₂ na germinação e alongamento de raiz da alface crespa.

Concentrações	Germinação(%)	Alongamento de plântulas (cm)
N-TiO ₂ 10mg/L + As 1,0 µg/L	0	-
N-TiO ₂ 10mg/L + As 10 µg/L	0	-
N-TiO ₂ 10mg/L + As 100 µg/L	0	-

1- *L.Sativa Var. Crispa*

O índice de germinação foi de 100% em todas as concentrações controles de N-TiO₂. Já nas sementes expostas somente ao Arsênio, podemos analisar, é que houve um decrescimento no alongamento da raiz nas suas concentrações mais elevadas. Por outro lado, a co-exposição entre N-TiO₂ e As potencializou a toxicidade deste último, reduzindo às taxas de germinação a zero.

4. CONCLUSÕES

Podemos concluir neste estudo, que as nanopartículas de dióxido de titânio não foram tóxicas na concentração de 10mg/L. Embora o arsênio seja um elemento fitotóxico, a co-exposição deste elemento com o nanomaterial potencializa sua toxicidade.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aruoja, V et. al., 2009. Toxicity of nanoparticles of CuO, ZnO and TiO₂ to microalgae *Pseudokirchneriella subcapitata*. Science of the Total Environment 407, 1461e1468.

Baun, A., Hartmann, N., Bloch, I., Grieger, KD, Kusk, KO 2008. Ecotoxicidade de nanopartículas para os invertebrados aquáticos: uma breve revisão e recomendações para testes de toxicidade futuro. Ecotoxicologia, 17: 387-395.

Blaise, C., et. al, 2006. Ecotoxicity of selected nanomaterials to aquatic organisms. Envir.Toxicology 23, 591-598.

Cordeiro, L., Müller, L., Gelesky, MA, Wasielesky, W., Fattorini, D., Regoli, F., Monserrat, JM, Ventura-Lima, J. 2015. Avaliação da co-exposição ao arsênico inorgânico e nanopartículas de dióxido de titânio no camarão marinho *Litopenaeus vannamei*. . Ciência Ambiental e Poluição Research, no prelo. (Polychaeta, Nereididae). Pesquisa Marinha Ambiental, 99: 52-59.

Costa, C., Chaves, IS, Ventura-Lima, J., Ferreira, JLR, Ferraz, L., Carvalho, LM, Monserrat, JM 2012. Avaliação in vitro da co-exposição de arsênio e um nanomaterial orgânica (fulereno, C60) em hepatócitos de peixe-zebra. Comparative Biochemistry and Physiology, Parte C, 155: 206-212.

Handy, RD, von der Kammer, F., Lead, JR, Hasselov, M., Owen, R., Crane, M. 2008. A ecotoxicologia e química de nanopartículas fabricadas. Ecotoxicologia. 17: 287-314.

Heinlaan, M., et. al., 2008. Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO₂ to bacteria *Vibrio fischeri* and crustaceans *Daphnia magna* and *Thamnocephalus platyurus*. *Chemosphere* 71, 1308-1316.

Henry, TB, Petersen, EJ, Compton, RN 2011. agregados Aqueous fullereno (NC60) geram espécies reativas de oxigênio mínimas e são de baixa toxicidade em peixes: Uma revisão dos relatórios anteriores. *Current Opinion in Biotechnology*. 22, 533-537.

Kaegi, R., Ulrich, A., trançada, B., Vonbank, R., Wichser, A., Zuleeg, S., Simmler, H. Brunner, S. Vonmont, H., Burkhardt, M., Boller, M. 2008. Synthetic emissão de TiO₂ nanopartículas de fachadas exteriores no meio aquático. *Poluição Ambiental*, 156: 233-239.

Limbach KL, Wich P, Manser P, Relva RN, Bruinink A, Stark WI 2007. A exposição de Engineered Nanopartículas de células humanas epiteliais do pulmão: Influência da composição química e atividade catalítica sobre o estresse oxidativo. *Environmental Science and Technology*, 41: 4.158-4.163.

M.S. Tiquia, et. al., 1996. Hodgkiss, Effects of composting on phytotoxicity of spent pig-manure sawdust litter, *Environ. Pollut.* 93 () 249–256.

Navarro, E., Baun, A., Hartmann, NB, Filser, J., Miao, AJ, Quigg, A., Santschi, PH, Sigg, L. 2008. comportamento e da ecotoxicidade de nanopartículas Ambiental em algas, plantas, e fungos. *Ecotoxicologia*, 17: 372-386.

Rui, Q., Zhao, Y., Wu, Q., Tang, M., Wang, D. 2013. Biossegurança avaliação de nanopartículas de dióxido de titânio em nematóides agudamente expostos *Caenorhabditis elegans* com mutações de genes necessários para o estresse oxidativo ou resposta ao estresse. *Chemosphere*, 93: 2289-2296.

Sun, H., Zhang, X., Zhang, Z., Chen, Y., Crittenden, JC 2009. Influência de nanopartículas de dióxido de titânio sobre especiação e biodisponibilidade de arsenito. *Poluição Ambiental*, 157: 1165-1170.

Zhu, M.T et. al., 2008. Comparative study of pulmonary responses to nanoand submicron-sized ferric oxide in rats. *Toxicology* 247, 102-111.

Zhu, S.Q., et. al., 2006. Toxicity of an engineered nanoparticle (fullerene, C60) in two aquatic species, *Daphnia* and fathead minnow. *Marine Environmental Research* 62, S5eS9.