

---

## RESPOSTAS DE *Egeria densa* SOB ESTRESSE POR CÁDMIO

Pestana, I.A.<sup>1</sup>, Esteves, B.S.<sup>2</sup>, Gomes, M.A.C.<sup>3</sup>, Suzuki, M.S.<sup>4</sup>, Souza, C.M.M.<sup>5</sup>

<sup>1</sup>UENF/Laboratório de Ciências Ambientais, inacio\_3003@yahoo.com.br

<sup>2</sup>UENF/Laboratório de Ciências Ambientais, brunosnts@yahoo.com.br

<sup>3</sup>UENF/Laboratório de Ciências Ambientais, maria\_angelicagomes@yahoo.com.br

<sup>4</sup>UENF/Laboratório de Ciências Ambientais, marina@uenf.br

<sup>5</sup>UENF/Laboratório de Ciências Ambientais, cristal@uenf.br

**Resumo** – Os efeitos de altas concentrações de Cd foram estudados na macrófita aquática *Egeria densa* Planch. Foram estimadas concentrações de pigmentos, índices de sensibilidade e taxas de remoção quando esta foi exposta às concentrações de 0, 5 e 10 mg/L de Cd, em períodos de exposição de 60, 84 e 108h. Os resultados mostraram reduções significativas nos pigmentos para ambos os tratamentos ( $p < 0,05$ ). Os índices de sensibilidade totais foram 1,5 maiores para o tratamento de 10 mg/L em relação ao de 5 mg/L. Os percentuais de acumulação de Cd relativos às macrófitas submetidas aos tratamentos de 5 mg/L e 10 mg/L foram em torno de 20% e 6% respectivamente. A taxa de remoção do metal foi de aproximadamente 60% em ambos os tratamentos, sendo observados momentos distintos de sorção.

**Palavras-chave:** macrófita, clorofila, metal.

### Área do Conhecimento: Ecologia Aplicada

#### Introdução

As macrófitas aquáticas têm um papel ecológico relevante em ecossistemas aquáticos. Propriedades relativas à retenção física de materiais particulados e sedimentos, sejam inorgânicos ou não, são bem reconhecidas na literatura (DHIR, 2010), bem como a absorção de nutrientes (MALECKI-BROW *et al.*, 2010) e metais pesados (BONANNO & GIUDICE, 2010).

A concentração de grandes populações urbanas tem gerado alta produção de resíduos domiciliares e industriais, que têm causado deterioração da qualidade do ambiente. O uso inadequado de insumos agrícolas é um agravante desse quadro, já que os impactos destes agentes poluidores são sentidos na atmosfera, nos cursos d'água e nos solos. (TORABIFAR *et al.*, 2008)

Diante desse cenário intensifica-se a necessidade da avaliação do comportamento dessas macrófitas quando expostas a concentrações elevadas de poluentes, com a finalidade de agregar dados sobre os efeitos destes sobre essa população.

O objetivo desse estudo foi examinar a sensibilidade e a taxa de remoção de Cd pela macrófita aquática *E. densa* quando submetida a situações de estresse provocado por concentrações elevadas de Cd e qual o efeito provocado por este sobre concentrações de pigmentos.

#### Metodologia

A macrófita aquática *E. densa* usada no experimento foi coletada na Lagoa do Campelo (41°11'W e 21°39'01"S) durante o mês de Março/2010 e transferida em caixas

plásticas até o LCA/CBB/UENF, onde as plantas foram processadas.

Três unidades experimentais (recipientes plásticos de 40 L) foram utilizadas considerando-se: o controle (0 mg/L de Cd), 5 e 10 mg/L de Cd. Em uma primeira etapa, a cada unidade experimental foram distribuídos igualmente 60 ápices (uniformizados em 7 cm, dos quais 5 cm ficaram expostos) entre 20 copos plásticos contendo areia. Em seguida adicionados 22 L de solução nutritiva com pH final de 7,8, onde a planta ficou totalmente submersa (HOAGLAND & ARNON, 1938; SMART & BARKO, 1985).

O período de aclimação durou 7 dias sob condições controladas em uma sala de cultivo no LBT/CBB/UENF (T=25°C; fotoperíodo 12h-12h e intensidade luminosa 180W).

Em uma etapa seguinte, toda a solução nutritiva foi repostada e ao meio foram inseridas as soluções de cloreto de cádmio (padrão tritisol, Merck) nas respectivas unidades experimentais. Sequencialmente, de cada unidade experimental foram retiradas alíquotas da planta (em “bulks” constituídos pela combinação de N=15 plantas individuais) para a determinação de pigmentos e conteúdo de Cd após 60, 84 e 108h de exposição ao metal. Alíquotas de água foram retiradas para verificar a taxa de remoção de Cd.

A metodologia aplicada à quantificação de pigmentos (clorofila *a* e *b* e carotenóides) considerou as seguintes etapas: 0,5 g de folhas frescas de *E. densa* foram acondicionadas em tubos de 15 mL, imersas em 5 mL de DMSO (dimetil sulfóxido conc), e mantidas no escuro por 4 dias. As determinações foram realizadas em espectrofotômetro (UV-160 A Shimadzu) nas absorvâncias de 480, 649 e 665 nm (Wellburn, 1994).

A absorção atômica de chama (AAS-4 Zeiss, LFIT/CCTA/UENF) foi a técnica utilizada para a quantificação do Cd em alíquotas de plantas frescas e soluções experimentais, seguindo metodologia adaptada de FISZMAN

*et al.*, (1984), nas duas matrizes, respectivamente: HNO<sub>3</sub>65%, HF48%, H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>4%; 10:2:13mL a 120°C em bloco digestor (± 24h) e HNO<sub>3</sub>65%, HCl35%, 2:1mL, a 80°C por 3h. Brancos analíticos foram considerados em todas as baterias de análise e os coeficientes de variação entre triplicatas calculadas em torno de 15%.

Os índices de sensibilidade, a diferença entre a produção de pigmentos das plantas tratadas com cádmio e o controle, foram calculados de acordo com a expressão:

$I.S. = (100 \times (P_{Cd} - P_{controle})/P_{controle})$ , onde P significa os pigmentos totais (SAADALLAH *et al.*, 2001). Este parâmetro se mostra mais negativo quando as plantas são mais sensíveis ao cádmio.

Os dados foram analisados por análise de variância com teste paramétrico *a posteriori* de Tukey com nível de significância de 0,05.

## Resultados

Os pigmentos evidenciaram uma redução drástica destes nas plantas submetidas ao Cd comparadas ao controle ( $p < 0,05$ ).

Para o tratamento de 5 mg/L, houve uma queda de 32 % nos conteúdos de clorofila *a* na retirada de 60h e 58 % na retiradas de 84 e 108h. Para o tratamento de 10 mg/L, em 84h houve um incremento significativo ( $p < 0,05$ ) de clorofila quando comparado com os tempos de 60h e 108h. (Gráfico 1a).

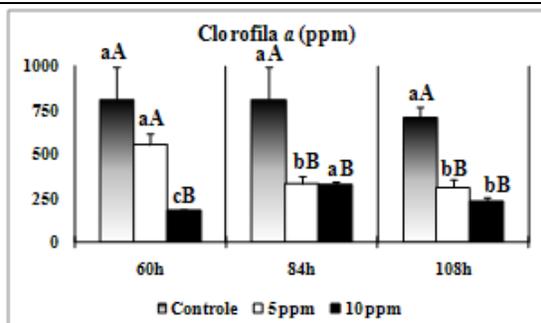


Gráfico 1.a – Concentrações de clorofila *a* nas plantas submetidas ao tratamento de 5 e 10 mg/L de Cd. Diferentes letras denotam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre as médias de cada *bulk*. Letras minúsculas diferenciam os tempos entre os mesmos tratamentos e letras maiúsculas diferenciam os tratamentos no mesmo tempo.

Clorofila *b* no tratamento de 5 mg/L apresentou redução de 5% em 60h, seguida de uma queda 49% para os tempos de 84 e 108h (Gráfico 1.b).

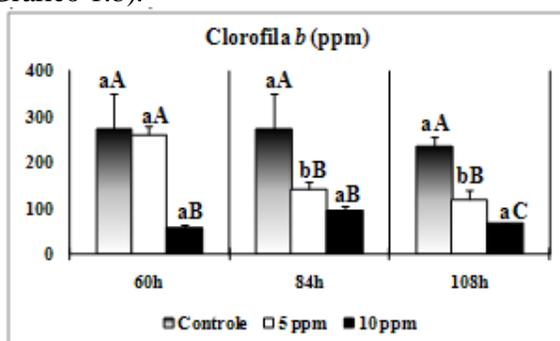


Gráfico 1.b – Concentrações de clorofila *b* nas plantas submetidas ao tratamento de 5 e 10 mg/L de Cd. Diferentes letras denotam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre as médias de cada *bulk*. Letras minúsculas diferenciam os tempos entre os mesmos tratamentos e letras maiúsculas diferenciam os tratamentos no mesmo tempo.

Os carotenóides apresentaram declínio de 48% em 60h no tratamento de 5 mg/L e redução de 78% nos tempos de 84 e 108h, respectivamente. Para o tratamento de 10 mg/L, houve uma queda média de 90% dos seus conteúdos em todos os tempos de retirada (Gráfico 1.c).

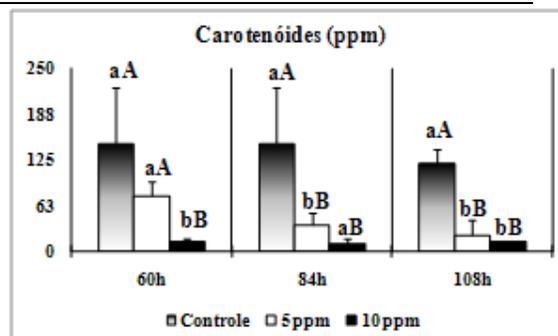


Gráfico 1.c – Concentrações de carotenóides nas plantas submetidas ao tratamento de 5 e 10 mg/L de Cd. Diferentes letras denotam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre as médias de cada *bulk*. Letras minúsculas diferenciam os tempos entre os mesmos tratamentos e letras maiúsculas diferenciam os tratamentos no mesmo tempo.

Os conteúdos de Cd nos tecidos das plantas submetidas ao tratamento de 5 mg/L nos tempos de retirada de 60 e 84h foram semelhantes ( $p > 0,05$ ) enquanto que para 108h, nota-se um aumento significativo ( $p < 0,05$ ). Já para a concentração de 10 mg/L, só foi vista diferença significativa ( $p < 0,05$ ) na retirada de 84h (Gráfico 2.a).

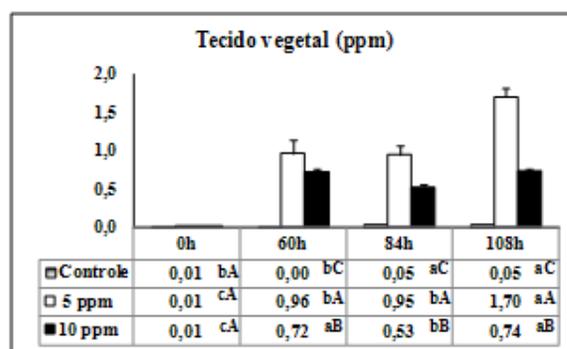


Gráfico 2.a - Concentrações de Cd nos tecidos das plantas submetidas ao tratamento de 5 e 10 mg/L. Diferentes letras denotam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre as médias de cada *bulk*. Letras minúsculas diferenciam os tempos entre os mesmos tratamentos e letras maiúsculas diferenciam os tratamentos no mesmo tempo.

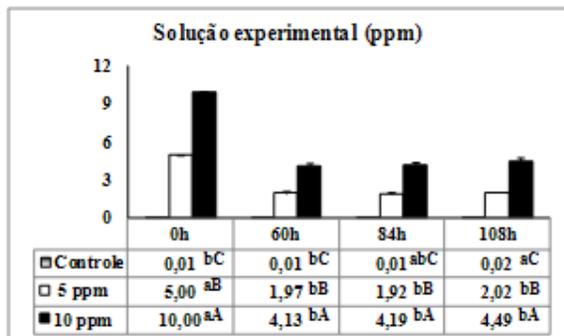


Gráfico 2.b – Concentrações de Cd na solução experimental do tratamento de 5 e 10 mg/L. Diferentes letras denotam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre as médias de cada *bulk*. Letras minúsculas diferenciam os tempos entre os mesmos tratamentos e letras maiúsculas diferenciam os tratamentos no mesmo tempo.

Os conteúdos de Cd na solução experimental referentes aos tratamentos de 5 e 10 mg/L não tiveram diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) para todos os tempos de retirada (Gráfico 2.b).

A taxa de remoção do metal da solução experimental foi aproximadamente 60% em ambos os tratamentos (Gráfico 3).

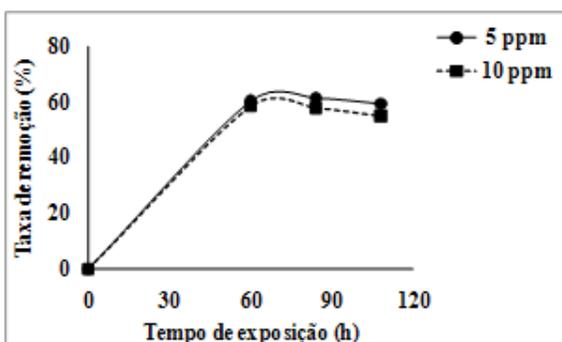


Gráfico 3 – Taxas de remoção de Cd da solução experimental em relação ao tempo de exposição.

Os índices de sensibilidade calculados, são apresentados na Tabela 1 para os tratamentos de 5 e 10 mg/L:

Tabela 1: Índices de Sensibilidade calculados para os experimentos de 5 e 10 mg/L de cádmio.

Índices de Sensibilidade – 5mg/L			
Retirada	Clorofila a	Clorofila b	Carotenóides
60h	-32	-5,1	-48
84h	-59	-49	-76
108h	-56	-50	-82
Índices de Sensibilidade – 10mg/L			
Retirada	Clorofila a	Clorofila b	Carotenóides
60h	-78	-79	-91
84h	-60	-65	-93
108h	-68	-72	-89

Os valores expressam índices inferiores para o tratamento de 10mg/L comparativamente ao de 5mg/L, seja considerando todos os pigmentos ou os tempos de retirada.

O conteúdo de pigmentos relativo ao controle revelou um incremento significativo ( $p < 0,05$ ) na produção destes em relação àqueles determinados nas plantas oriundas da Lagoa do Campelo. Em relação à clorofila *a* esse aumento foi de aproximadamente 6 vezes (Gráfico 4). Isso indica que a planta respondeu prontamente a solução nutritiva quando comparada a situação natural, onde não havia uma condição ótima para seu crescimento.

Quando comparada à queda gradativa de carotenóides ocorrida no tratamento de 5 mg/L com a drástica queda dos mesmos ocorrida no tratamento de 10 mg/L ( $p < 0,05$ ), pode-se inferir que a condição fisiológica das plantas submetidas ao tratamento de 5 mg/L era superior àquelas submetidas ao tratamento de 10 mg/L.

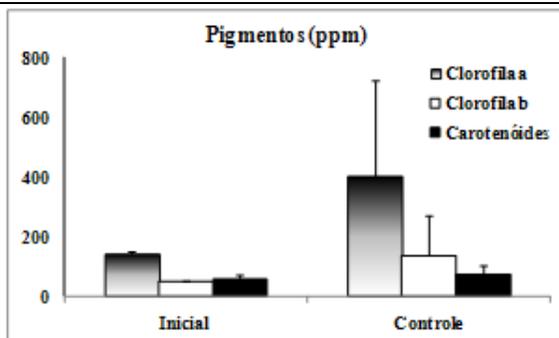


Gráfico 4 – Concentrações dos pigmentos nos tecidos vegetais não-expostas à solução nutritiva (Inicial) e expostas a solução nutritiva (Controle).

## Discussão

Os carotenóides desempenham um papel crucial na proteção de clorofilas contra danos oxidativos, então uma redução destes pode ser uma interferência provocada pelo Cd em sua biossíntese ou aumento de sua degradação (MISHRA *et al.*, 2006).

Observa-se que os carotenóides foram bem mais sensíveis ao metal do que a clorofila *a* e *b* no tratamento de 5 mg/L. Os índices de sensibilidade totais foram em média 1,5 maiores para o tratamento de 10 mg/L em relação ao tratamento de 5 mg/L (NGAYILA *et al.*, 2009).

Foi observada uma clorose intensa nos tecidos das plantas do tratamento de 10 mg/L quando comparadas com àquelas submetidas ao tratamento de 5 mg/L em tempos de retiradas equivalentes. Isso pode ser devido a uma redução dos pigmentos e pode ser tomado como um sintoma visual do excesso de Cd (WANG *et al.*, 2009) nos tecidos vegetais.

Foi observada uma redução nas concentrações de Cd na solução experimental e concomitantemente um incremento deste no tecido vegetal de ambos os tratamentos. No tratamento de 5 mg/L ocorreu uma maior sorção devido as plantas apresentarem-se menos danificadas do que em 10 mg/L. Neste último, o possível rompimento das membranas biológicas teria iniciado interações do Cd

internalizado com a solução experimental, liberando-o para esta tanto por pressão ocasionada por uma diferença de concentração, quanto por interações físico-químicas (RATUSHNYAK, 2010).

Em ambos os tratamentos nota-se que a planta foi capaz de captar e acumular esse metal nos seus tecidos (taxa de remoção de 60%). Porém, provavelmente devido a um colapso metabólico essa acumulação não pode ser mantida. Observou-se que a fase rápida de sorção aconteceu durante as primeiras 60h, devido a uma maior disponibilidade de sítios de adsorção e foi seguida de uma fase lenta, devido a uma provável saturação nestes locais. (BENAVIDES *et al.*, 2005).

## Conclusão

*E. densa* é mais sensível à concentração de 10 mg/L do que à concentração de 5 mg/L de Cd. Essa sensibilidade afeta os pigmentos proporcionalmente, que apresentam maiores diminuições em seus conteúdos totais nas concentrações de 10 mg/L de Cd. A taxa de remoção do metal foi de aproximadamente 60% em ambos os tratamentos, sendo observados momentos distintos de sorção.

## Agradecimentos

A equipe agradece a colaboração da Profa Marília Berbet (LBT/CBB/UENF) pela permissão de uso da sala de cultivo; e ao LFIT/CCTA/UENF através do Prof Pedro H Monnerat e o Técnico José Acácio da Silva pelas análises na Absorção Atômica.

## Referências

BENAVIDES, M.P., GALLEGOS, S.M., TOMARO, M.L. Cadmium toxicity in plants. **Braz. J. Plant Physiol.**, vol.17, no.1, p.21-34, 2005

- BONANNO, G., GIUDICE, R.L.. Heavy metal bioaccumulation by the organs of *Phragmites australis* (common reed) and their potential use as contamination indicators. **Ecological Indicator**, 10:639–645, 2010.
- DHIR, B.. Use of aquatic plants in removing heavy metals from wastewater. **International Journal of Environmental Engineering**, 2:185-201, 2010
- FISZMAN, M., PFEIFFER, W.C., LACERDA, L.D. Comparation of methods used for extraction and geochemical distribution of heavy metals in bottom sediments from Sepetiba Bay, R.J. **Environmental Technology Letters** 5:567-57, 1984.
- HOAGLAND, D.R., ARNON D.L.. The water culture method for growing plants without soil. **California Agr. Expt. Sta. Circ.** 347, 1938.
- MALECKI-BROWN, L.M., WHITE J.R., BRIX H. Alum application to improve water quality in a municipal wastewater treatment wetland: Effects on macrophyte growth and nutrient uptake. **Chemosphere**, 79:186–192, 2010.
- MISHRA, S., SRIVASTAVA, S., TRIPATHI, R.D., GONVINDARAJAN, R., KURIAKOSE, S.V., PRASAD, M.N.V. Phytochelatin synthesis and response of antioxidants during cadmium stress in *Bacopa monnieri* L. **Plant Physiology. Biochem.** 44:25-37, 2006.
- NGAYILA, N., BOTINEAU, M., BAUD, M., BASLY, J. *Myriophyllum alterniflorum*: Effect of low concentrations of copper and cadmium on somatic and photosynthetic endpoints: A chemometric approach. 9(2): 307-312, 2009
- RATUSHNYAK, A.A. Defense Mechanisms in Hydrobiosystems. **World Applied Sciences Journal**, 8: 350-353, 2010
- SAADALLAH, K., DREVON, J.J., ABDELLY, C. Nodulation et croissance nodulaire chez le haricot (*Phaseolus vulgaris*) sous contrainte saline. **Agronomie**, 21:627–34, 2001.
- SMART, R.M., BARKO, J.W. Laboratory culture of submersed freshwater macrophytes on natural sediments.," **Aquatic Botany** 21: 251-263, 1985
- TORABIFAR, B., TORABIAN, A., AZIMI, A.A., VOSSOUGH, M. Effect of phosphorus in commercial fertilizers on phytoavailability cadmium and zinc uptake by sugarcane. **Transactions on Ecology and the Environment**, 1:739-749, 2008.
- WANG, H., ZHAO, S.C., LIU, R.L., ZHOU, W., JIN, J.Y. Changes of photosynthetic activities of maize (*Zea mays* L.) seedlings in response to cadmium stress. **Photosynthetica**, 47: 277-283, 2009
- WELLBURN, A.R. The spectral determination of chlorophylls *a* and *b*, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. **J. Plant Physiol.**, v. 144, n. 3, p. 307-313, 1994.