

ABSORÇÃO E ACÚMULO DE CÁDMIO E SEUS EFEITOS SOBRE O CRESCIMENTO RELATIVO DE PLANTAS DE AGUAPÉ E DE SALVÍNIA¹

JURACI ALVES DE OLIVEIRA², JOSÉ CAMBRAIA³, MARCO ANTONIO OLIVA
CANO⁴ E CLÁUDIO PEREIRA JORDÃO⁵

Departamento de Biologia Geral, Universidade Federal de Viçosa, 36.501-000 - Viçosa, MG.

RESUMO – A absorção e acúmulo de Cd e seus efeitos sobre o crescimento relativo foram estudados em aguapé (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms) e salvinia (*Salvinia auriculata* Aubl.), em solução nutritiva. O aguapé absorveu quantidade significativamente maior de Cd do que a salvinia, tendo a diferença aumentado com o tempo de exposição ao Cd. O Km da absorção de Cd, estatisticamente igual nas duas espécies aquáticas quando as folhas contactavam a solução nutritiva, tornou-se maior em salvinia quando se impediu fisicamente que as folhas contactassem a solução de absorção. O Vmax de absorção de Cd, por outro lado, foi sempre maior em salvinia, independentemente do contato ou não das folhas com a solução nutritiva. A quantidade de Cd adsorvido e absorvido aumentou com a elevação da concentração de Cd na solução de cultivo, nas duas espécies estudadas, tendo sido maior em salvinia, possivelmente em razão da participação da parte aérea no processo de absorção. O acúmulo de Cd nas plantas, elevado nas primeiras 12 h de exposição, decresceu rapidamente com o tempo de exposição, estabilizando após três dias de exposição. Salvinia apresentou maior acúmulo diário de Cd por unidade de peso mas aguapé maior acúmulo total por unidade experimental. Os teores de Cd aumentaram com o aumento do tempo de exposição e da concentração de Cd na solução nutritiva, nas duas partes da planta das duas espécies, especialmente nas raízes. Cerca de 80% de todo o Cd absorvido acumulou-se nas raízes de aguapé, e a distribuição não foi afetada pelo contato das folhas com a solução nutritiva. Em salvinia, quando se impediu o contato das folhas com a solução nutritiva observou-se uma distribuição do Cd aproximadamente igual à de aguapé. Quando, porém, se permitiu o contato das folhas com a solução nutritiva a parte aérea passou a contribuir com quase 50% do Cd absorvido. As taxas de crescimento relativo decresceram intensamente com o aumento da concentração de Cd na solução nutritiva nas duas espécies aquáticas, especialmente em salvinia. As concentrações de Cd para promover redução de 25% no crescimento relativo foram, em média, doze vezes menores em salvinia do que em aguapé, em razão de sua maior sensibilidade a este metal pesado.

TERMOS ADICIONAIS PARA INDEXAÇÃO: Metais pesados, tolerância a cádmio, plantas aquáticas

Recebido: 10/10/2001 - Aceito: 12/12/2001

1. Parte da Tese de Doutorado defendida pelo primeiro autor na Universidade Federal de Viçosa. Trabalho financiado parcialmente pela FAPEMIG.
2. Professor Adjunto, DS, Departamento de Biologia Geral, UFV. E-mail: jalves@ufv.br
3. Professor Titular, PhD, Departamento de Biologia Geral, UFV. Bolsista do CNPq.
4. Professor Titular, Dr rer. Nat., Departamento de Biologia Vegetal, UFV. Bolsista do CNPq.
5. Professor Titular, PhD, Departamento de Química, UFV. Bolsista do CNPq.

CADMIUM ABSORPTION AND ACCUMULATION AND ITS EFFECTS ON THE RELATIVE GROWTH OF WATER HYACINTHS AND SALVINIA

SUMMARY – Cadmium absorption and accumulation and its effects on the relative growth of water hyacinth (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms) and salvinia (*Salvinia auriculata* Aubl.) in nutrient solution were studied. Water hyacinth absorbed a significant higher amount of Cd than salvinia, and the difference between the species increased with the time of Cd treatment. The K_m of Cd absorption, statistically similar in the two aquatic species when the leaves contacted the nutrient solution, became larger in salvinia when the leaves were not allowed to contact the absorption solution. The V_{max} , on the other hand, was always larger in salvinia, independent of the contact or not of the leaves with the nutrient solution. The amount of adsorbed and absorbed Cd increased with the increase of Cd concentration, in both species, especially in salvinia, probably due to leaf contribution to uptake. The accumulation of Cd in the plants, high in the first 12 h, quickly decreased with the time of exposition to Cd, reaching stabilization after three days. Salvinia showed larger daily accumulation of Cd per unit of weight but water hyacinth larger total accumulation per experimental unit. Cadmium content increased with the increase in the time of treatment and with Cd concentration in the nutrient solution, in both parts of the plant of the two species, especially in the roots. In water hyacinth about 80% of the total absorbed Cd accumulated in the roots, and that distribution did not change with the contact of the leaves with the nutrient solution. In salvinia, when the contact of the leaves with the nutrient solution was not allowed Cd distribution was similar to that observed in water hyacinth. When, however, the leaves contacted the nutrient solution about 50% of the absorbed Cd accumulated in that part of the plant. The relative growth decreased intensely with the increase in Cd concentration in both aquatic species, especially in salvinia. The concentration of Cd to reduce 25% in the relative growth rate was, on average, twelve times smaller in salvinia than in water hyacinth, due to its sensitivity to this heavy metal.

ADDITIONAL INDEX TERMS: Heavy metals, cadmium tolerance, aquatic plants

INTRODUÇÃO

Dentre as várias formas de contaminação do meio ambiente resultante das diversas atividades industriais e agrícolas, a contaminação da água com metais pesados tem sido uma das que tem trazido mais preocupação aos pesquisadores e órgãos governamentais envolvidos no controle de poluição. É que a água, além de ser um dos mais importantes fatores da preservação da vida em vias de se tornar escassa no mundo, está sendo contaminada com o despejo de rejeitos industriais e urbanos e várias outras atividades humanas.

Há, portanto, grande interesse não somente em se detectar possíveis contaminações como, também, encontrar meios que possibilitem a descontaminação do meio ambiente. Várias plantas

aquáticas têm sido estudadas e sugeridas como alternativas para solução destes problemas. Dentre elas, o aguapé (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms), que apresenta elevada capacidade de absorver e tolerar elevadas quantidades de íons de metais pesados (Muramoto e Oki, 1983) é uma das mais promissoras. Outra espécie que apresenta potencial de uso em estudos relacionados à poluição aquática por metais pesados é a salvinia (*Salvinia auriculata* Aubl.). Esta, entretanto, ao contrário da primeira, apresenta sensibilidade relativamente elevada tornando-a, potencialmente interessante na indicação de contaminação de sistemas aquáticos com metais pesados (Outridge e Hutchinson, 1990).

As espécies vegetais, de modo geral, apresentam grande variação quanto à absorção de metais pesados, incluindo o Cd (Hart *et al.*, 1998).

As raízes, geralmente, constituem o principal órgão da planta envolvido na absorção e, portanto, quase sempre, as maiores concentrações de metais pesados são, também, encontradas nesta parte da planta (Grant *et al.*, 1998). Em plantas aquáticas, entretanto, as folhas estabelecem contato direto com a solução de absorção que contem o metal pesado e, portanto, teoricamente podem absorver tanto quanto as raízes. A absorção de metais pesados por folhas é pouco conhecida e, menos ainda, a influência que isto teria sobre a absorção pelas raízes e a subsequente translocação para a parte aérea (Cakmak *et al.*, 2000).

Este trabalho, portanto, teve como objetivo avaliar a absorção, o acúmulo e a distribuição de Cd e seu subsequente efeito sobre o crescimento relativo em aguapé e salvinia

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção e adaptação das plantas

Plantas aquáticas das espécies *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms e *Salvinia auriculata* Aubl., coletadas em várias represas da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, que não recebiam qualquer despejo de poluentes, foram utilizadas em todos os experimentos.

As plantas, após selecionadas quanto à uniformidade de tamanho e forma, foram lavadas por 1 min em solução de hipoclorito de sódio 1% (v/v) e em água corrente e mantidas por 24 horas em água desmineralizada. Após esse período, foram transferidas para recipientes de polietileno com 10 L de solução nutritiva de Hoagland (Hoagland e Arnon, 1950), n° 1, com 1/5 da força iônica original, pH 7, e colocadas em sala de crescimento com temperatura e luminosidade controladas ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, $230 \mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$), sob fotoperíodo de 16 horas, onde permaneceram por três dias, em período de adaptação.

Avaliação das constantes cinéticas de absorção de Cd

As plantas das duas espécies, após o período de adaptação, foram transferidas para vasos de polietileno contendo 1 L da solução

nutritiva de Hoagland n°. 1, com 1/5 da força iônica original, pH 7,0, na ausência e na presença de Cd na concentração de $5 \mu\text{M}$, na forma de $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. Após a introdução das plantas na solução de absorção, em que se teve o cuidado de impedir o contato das folhas com a solução nutritiva em metade dos vasos, alíquotas de 1 mL passaram a ser retiradas de cada vaso, inicialmente, de 15 em 15 min durante a primeira hora, de 30 em 30 min durante a segunda hora e, em seguida, de hora em hora até que não houvesse mudança significativa na concentração de Cd da solução nutritiva. As concentrações de Cd nas alíquotas coletadas foram, então, determinadas por espectrofotometria de absorção atômica, sendo os dados obtidos utilizados para estimar as constantes cinéticas, por uma aproximação gráfico-matemática, conforme sugerido por Ruiz (1985). Ao final do ensaio, as plantas foram divididas em raízes e parte aérea para determinação do peso de matéria seca e dos teores de Cd nas duas partes da planta.

Avaliação da adsorção e dessorção do Cd pelas raízes

As plantas das duas espécies, após o período de adaptação, foram transferidas para vasos de polietileno com 500 mL da solução nutritiva de Hoagland n°. 1, com 1/5 da força iônica original, pH 7,0, isenta de Ca^{2+} , contendo Cd nas concentrações de 5 e $10 \mu\text{M}$, onde permaneceram por 30 min. Após esse período, as plantas foram removidas da solução nutritiva, lavadas em água desmineralizada, sob agitação magnética por 30 segundos, e, então, transferidas para vasos de polietileno contendo 500 mL de uma solução de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 1,25 mM. Esta solução foi trocada, a cada 10 min, durante um período de 60 min. Nas soluções coletadas determinou-se o teor de Cd por espectrofotometria de absorção atômica. Ao final do período de dessorção, as plantas foram lavadas, separadas em raízes e parte aérea e secadas em estufa convencional a 80°C até a obtenção de peso seco constante e, após mineralização, determinou-se a quantidade de Cd absorvida.

Efeito de diferentes níveis de Cd e tempo de exposição sobre os teores Cd e sobre o crescimento relativo.

As plantas das duas espécies, após o período de adaptação, foram transferidas para vasos de polietileno contendo 2 L de solução nutritiva de Hoagland n°.1, com 1/5 da força iônica original, pH 7,0, onde foram tratadas com diferentes concentrações de Cd: 0; 1,0; 2,5; 5,0; 10,0; e 20,0 μM , fornecido sempre na forma de $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, durante um período de 10 dias. A solução nutritiva foi trocada no quinto dia e o pH ajustado diariamente para 7,0. O peso inicial de matéria seca foi estimado a partir de amostras tomadas ao acaso do mesmo lote de plantas utilizadas no experimento.

Num segundo experimento paralelo, plantas das duas espécies, preparadas exatamente conforme anteriormente descrito, foram tratadas com Cd na concentração de 5 μM durante 12 horas, 3, 5 e 10 dias. Neste caso, a solução nutritiva foi trocada diariamente, a fim de manter aproximadamente constante o valor de pH e da concentração de Cd.

No décimo dia, quando o primeiro experimento foi encerrado ou após cada período de exposição no segundo experimento, o material vegetal foi colhido e lavado em água corrente, em solução de HCl 0,1 M por 1 min e, em seguida, enxaguadas em água desmineralizada. Após determinação do peso de matéria fresca, o material vegetal foi colocado para secar em estufa convencional a 80°C até obtenção de peso seco constante. Na matéria seca foram determinados os teores de Cd nas raízes e na parte aérea.

As taxas de crescimento relativo foram estimadas, utilizando-se a equação proposta por Hunt (1978).

Determinação do Teor de Cádmio

O material vegetal, moído em almofariz elétrico em cápsula de aço inox, foi submetido à mineralização por via úmida, usando-se uma mistura nítrico-perclórica e os teores de cádmio determinados por espectrofotometria de absorção atômica (Allan, 1969).

Delineamento experimental

Todos os experimentos foram realizados no delineamento experimental de blocos casualizados, segundo um esquema fatorial. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste F.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Absorção e adsorção de Cd

As plantas de aguapé, na mesma base de peso, retiraram uma quantidade de Cd significativamente maior do que as de salvinia, diferença esta que se ampliou com o tempo de exposição a este elemento (Figura 1). Esta diferença já era esperada em função da toxicidade do Cd e das diferenças de tolerância destas duas plantas a este elemento. Evidentemente que, quanto maior o tempo de exposição das plantas ao Cd maiores são os danos sobre seus sistemas metabólicos, incluindo a produção de energia e, ou sobre a síntese das proteínas formadoras do canal iônico através do qual o Cd está penetrando nas células.

As constantes cinéticas da absorção de Cd pelas duas espécies são apresentadas na Tabela 1. Os valores de K_m foram estatisticamente iguais nas duas espécies aquáticas quando se permitiu que houvesse contato das folhas com a solução de absorção. Quando se impediu fisicamente que as folhas tocassem a solução de absorção, observou-se um aumento de cerca de 18% no valor do K_m em salvinia, enquanto em aguapé o valor permaneceu essencialmente constante. Sob esta condição, portanto, as raízes de aguapé apresentaram um valor de K_m menor, isto é, maior afinidade por Cd, do que as de salvinia. Esta perda de afinidade do sistema de absorção de Cd, que ocorreu apenas em salvinia, sugere que o sistema de absorção nas folhas tem uma afinidade por Cd ligeiramente maior do que as raízes.

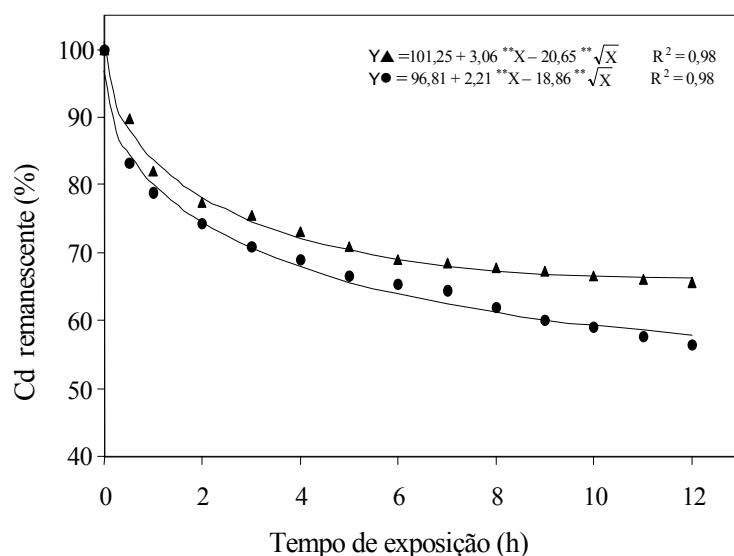


FIGURA 1 – Efeito do tempo de exposição sobre a absorção de Cd por aguapé (●) e salvinia (▲) expostas a uma solução de cultivo contendo Cd na concentração de 5 μM.

A velocidade máxima de absorção (V_{max}) de Cd em salvinia foi quase 2,5 vezes maior do que em aguapé quando se permitiu o contato das folhas com a solução de absorção (Tabela 1). Quando se impediu fisicamente que as folhas tocassem a solução de absorção o valor de V_{max} permaneceu inalterado em aguapé, mas reduziu cerca de 23 % em salvinia. Mesmo assim, o valor de V_{max} em salvinia ainda foi cerca de 85% superior ao valor determinado em aguapé.

No caso do aguapé o contato ou não das folhas com a solução absorção não alterou os valores de K_m e de V_{max} , indicando que as folhas não têm participação direta no processo de absorção. Nessa espécie, em razão da presença de estruturas que favorecem sua flutuação na água e da distribuição de suas folhas, mesmo em condições naturais, o contato das folhas com a solução de cultivo é muito pequeno e, portanto, a participação das folhas na absorção de íons do meio de nutrição deve, também, ser pequena. Nas plantas de salvinia, ao contrário, a maior parte da face adaxial das folhas entra em contato com a solução de absorção contendo Cd e parece haver

uma participação significativa desta parte da planta na absorção deste elemento. Nestas plantas, portanto, como V_{max} foi calculado com base apenas na massa de raízes, é possível que tenha havido uma superestimativa de seu valor.

Outro complicador na avaliação da absorção e, ou estimativa de constantes cinéticas de absorção de elementos como o Cd é a fitotoxicidade inerente do próprio elemento. Como este elemento é extremamente tóxico, interferindo fortemente no metabolismo da planta e na biossíntese dos sistemas de transporte de íons, não se pode esperar muito tempo para efetuar a avaliação da absorção. Assim, para se reduzir tal efeito, optou-se por avaliar as constantes cinéticas em plantas em “steady state”, exceto com relação à concentração de Cd.

Em aguapé, sob condições experimentais semelhantes, observou-se decréscimo acentuado dos níveis de Cd na solução de cultivo nas primeiras 3 h de exposição, seguido de taxa aproximadamente linear de decréscimo até 12 h, sendo que essa fase de lenta absorção corresponde à absorção intracelular (Fett *et al.*, 1994).

Apresentemente, a capacidade de manter essa fase por tempo prolongado depende da capacidade das raízes de sintetizar fitoquelatinas, as quais têm sido identificadas em várias espécies de plantas (Rauser, 1986; Obata e Umebayashi, 1986), incluindo aguapé (Fujita e Kawanishi, 1986) e *Salvinia minima* (Outridge *et al.*, 1991).

A quantidade de Cd adsorvido por grama de matéria seca de raiz aumentou, em média, cerca de 123% com a elevação da concentração de Cd na

solução de cultivo, nas duas espécies aquáticas estudadas (Tabela 2). As raízes de salvinia, independente da concentração de Cd na solução de cultivo, adsorveram, em média, cerca de 4 vezes mais Cd do que as de aguapé. Como a quantidade adsorvida foi avaliada com base na concentração de Cd presente na solução de dessorção e não pela análise dos tecidos vegetais, propriamente dito, é possível que esse valor esteja sendo superestimado em razão de uma possível absorção foliar.

TABELA 1 - Constantes cinéticas da absorção de Cd²⁺ em plantas de aguapé e salvinia, permitindo-se ou não o contato das folhas com a solução de absorção.

Contato das folhas com a solução de absorção	Km		Vmax	
	Aguapé	Salvinia	Aguapé	Salvinia
	$\mu\text{mol L}^{-1}$		$\mu\text{mol L}^{-1}\text{g}^{-1}\text{MS}$	
Sim	4,04 Aa ¹	4,19 Ba	4,26 Ab	10,44 Aa
Não	3,94 Ab	4,65 Aa	4,32 Ab	7,99 Ba

¹ As médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas, para cada espécie, e minúsculas nas linhas, para cada tratamento, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste F, a 5% de probabilidade.

TABELA 2 - Adsorção e absorção de Cd por raízes de aguapé e salvinia expostas a dois níveis de Cd durante 30 minutos

Cd	Cd adsorvido		Cd absorvido		Cd adsorvido/absorvido	
	Aguapé	Salvinia	Aguapé	Salvinia	Aguapé	Salvinia
	μM^l		$\mu\text{g g}^{-1}\text{MS}$			
5,0	211,3 Aa ¹	832,9Ab	86,3Aa	328,8Ab	2,5 Aa	2,5 Aa
10,0	471,7 Ba	1873,3 Bb	186,4 Ba	233,0 Bb	2,6 Aa	8,0 Bb

¹ As médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas, para cada espécie, e minúsculas nas linhas, para cada tratamento, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste F, a 5% de probabilidade.

Na concentração de 5 μM de Cd na solução nutritiva, as plantas de salvinia, também, absorveram aproximadamente 4 vezes mais Cd do que as de aguapé, tornando a relação Cd adsorvido/absorvido essencialmente igual à de plantas de aguapé. Na concentração de 10 μM de Cd, no entanto, embora a quantidade de Cd adsorvido por salvinia tenha aumentado, observou-se drástica diminuição na quantidade absorvida, ficando a relação Cd adsorvido/absorvido em salvinia apenas cerca 3,1 vezes superior à em aguapé. Isso, provavelmente, se deveu aos efeitos tóxicos do Cd sobre o metabolismo daquela planta ou diretamente sobre seu sistema de transporte de Cd através membrana plasmática (Gupta e Devi, 1992), aparentemente bem mais sensível que o aguapé.

Aparentemente, mesmo na concentração mais elevada de Cd, parece não ter ocorrido saturação dos sítios de adsorção do espaço livre de Donnan, uma vez que a fração trocável mais do que dobrou com a duplicação da concentração de Cd na solução de cultivo. Resultados semelhantes foram obtidos por Fett *et al.* (1994), que demonstraram a enorme capacidade de acúmulo de Cd apresentada por aguapé, que concentraram em seus tecidos mais que 2,29 mg de Cd trocável por grama de matéria seca.

Os resultados mostram, também, que no caso de íons como o Cd^{2+} , uma parte significativa do elemento retirado da solução nutritiva está apenas adsorvido e não realmente absorvido. Com o prolongamento do período de exposição, entretanto, a fração absorvida tende a aumentar, dependente do grau de toxicidade do elemento, enquanto a fração adsorvida tende a atingir um patamar.

Acúmulo e distribuição do Cd

O acúmulo de Cd nas plantas, ainda bastante elevado após 12 horas de exposição, decresceu rapidamente com o tempo de exposição das plantas a esse elemento, tanto nas raízes como na parte aérea das duas espécies aquáticas analisadas (Figura 2). Após três dias, o acúmulo continua decrescendo, mas em taxa muito menor, tendendo para uma estabilização até o final do período experimental, nas duas espécies. A exposição de plantas a níveis tóxicos de elementos como o Cd resultam em rápido declínio na capacidade das plantas absorverem e, ou acumularem este elemento, principalmente em função de uma redução generalizada nas taxas metabólicas do vegetal.

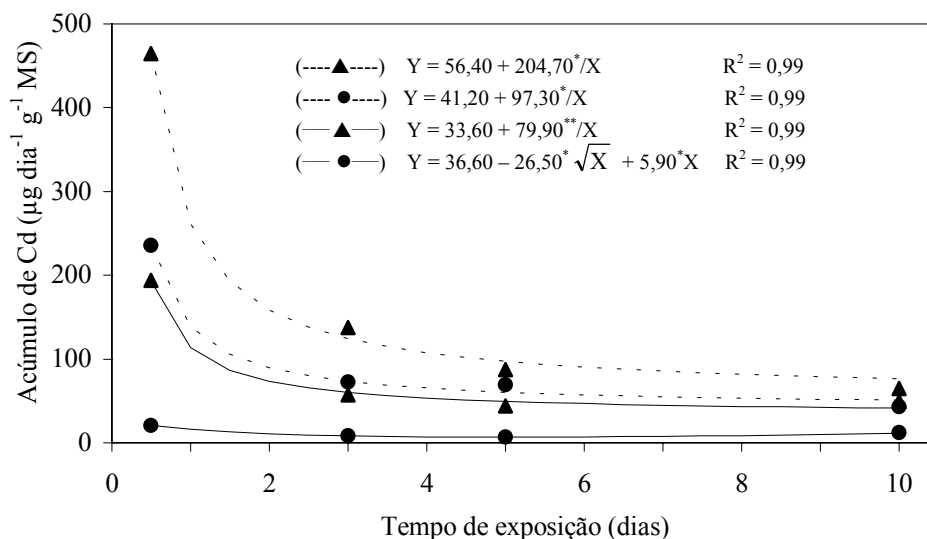


FIGURA 2 - Acúmulo de Cd por raízes (▲) e parte aérea (●) de aguapé (—) e salvinia (----) em função do tempo de exposição a uma solução de cultivo contendo Cd na concentração de 5 μM .

Como neste experimento, a exposição ao Cd se prolongou por um período de tempo relativamente longo os efeitos tóxicos do metal sobre o metabolismo vegetal tornaram-se evidentes pelo rápido declínio da taxa de acúmulo diário. Observe que as folhas de salvinia, após 12 horas, apresentavam um acúmulo de Cd mais de 2,4 vezes superior às de aguapé. No caso da salvinia, provavelmente, o Cd encontrado nas folhas parte resultou de translocação radicular mas parte significativa pode ter sido resultado de uma absorção direta pelas folhas que entram em contato com a solução nutritiva. Em aguapé, por outro lado, acredita-se que o Cd presente nas folhas originou-se essencialmente de translocação radicular.

Observe que o acúmulo diário de Cd por unidade de peso foi sempre maior em salvinia do que em aguapé, independente da parte analisada (Figura 2). Como no planejamento experimental optou-se por colocar plantas em número suficiente para cobrir a área de lâmina d'água dos vasos e não um número fixo de plantas as massas das plantas das duas espécies eram bastante distintas. Os acúmulos diários totais de Cd de todas as plantas da unidade experimental mostraram curvas similares mas, neste caso, o aguapé passou a

acumular significativamente mais Cd do que a salvinia (resultados não apresentados). O aguapé, portanto, para uma definida área de lâmina d'água produz maior quantidade de massa vegetal e, sendo mais tolerante a níveis elevados de metais pesados, possui maior capacidade de remover estes metais pesados de águas contaminadas.

O teor de Cd aumentou tanto nas raízes como na parte aérea das duas espécies aquáticas em função do tempo de exposição ao Cd (Figura 3), tendo sido significativamente maior em salvinia, durante todo o período experimental. No caso de aguapé, o teor de Cd passou de 57 para 493 e de 6 para 122 $\mu\text{g g}^{-1}$ de matéria seca nas raízes e parte aérea, entre os períodos experimentais de 12 horas e 10 dias, respectivamente, sem manifestação de danos visíveis acentuados nas plantas. No caso da salvinia os incrementos percentuais nos teores de Cd com aumento do tempo de exposição foram menores mas as plantas apresentaram sintomas visíveis de intoxicação. Elevação nos teores de Cd em função do aumento do tempo de exposição tem sido verificada em várias espécies vegetais, inclusive em aguapé conforme relata Ding *et al.*, (1994).

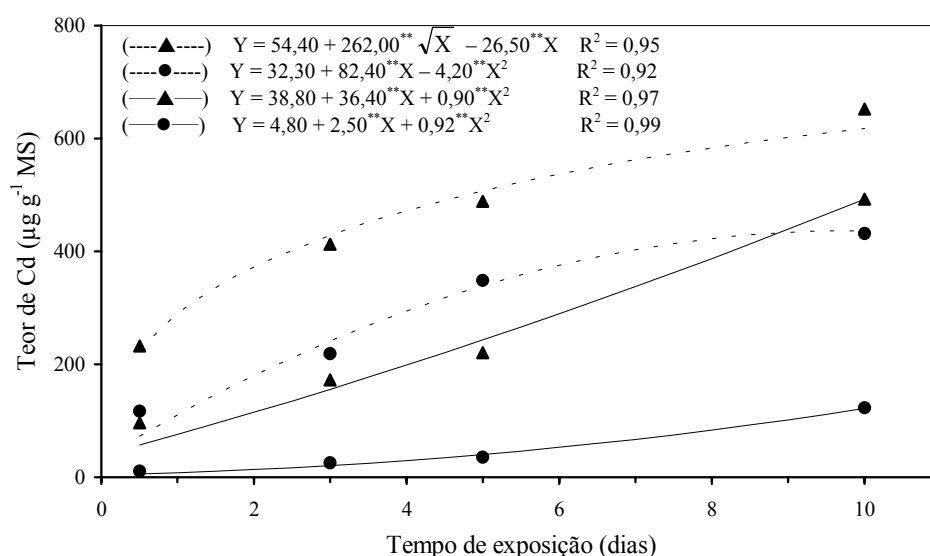


FIGURA 3 - Teor de Cd nas raízes (▲) e parte aérea (●) de aguapé (—) e salvinia (----) em função do tempo de exposição a uma solução de cultivo contendo Cd na concentração de 5 μM .

Os teores de Cd elevaram-se tanto na parte aérea como nas raízes com o aumento da concentração deste elemento na solução nutritiva, nas duas espécies de plantas (Figura 4). Os teores de Cd nas raízes foram sempre maiores do que na parte aérea, nas duas espécies, e as diferenças mantiveram-se essencialmente constante com o aumento da concentração do Cd no meio de cultivo. Em concentrações de Cd acima de 10 μM , ao que tudo indica, deve ter ocorrido saturação dos sítios de ligação desse metal nas raízes de aguapé, uma vez que o incremento no teor de Cd nesta parte da planta foi de apenas 7,3% para um aumento de duas vezes na concentração deste elemento na solução nutritiva. Na parte aérea, não se observou tendência à estabilização, mesmo na dose de 20 μM de Cd, embora o incremento tenha sido bastante inferior ao de salvinia. Nas plantas desta espécie, ao contrário, o teor de Cd elevou-se proporcionalmente com o aumento das concentrações de Cd na solução de cultivo, tanto nas “raízes” como na parte aérea ao longo de todo o intervalo de concentração testado, indicando uma incapacidade desta espécie de controlar a absorção e o acúmulo do Cd.

O maior acúmulo de Cd nas raízes, observado nas duas espécies parece ser resultado do contato direto das raízes com a solução nutritiva e à ligação do Cd às cargas negativas das paredes celulares do sistema radicular em detrimento de uma maior absorção e, posterior transferência para a parte aérea (Grant *et al.*, 1998). Adicionalmente, admite-se que parte do Cd absorvido é complexado na forma fitoquelatinas e armazenado nos vacúolos das células das raízes (Zenk, 1997).

Em aguapé acima de 80% de todo o Cd absorvido acumulou-se nas raízes, independente de se ter ou não permitido o contato das folhas com a solução nutritiva (Tabela 3). Em salvinia, entretanto, quando se permitiu que as folhas contatassem a solução de cultivo, verificou-se expressiva participação dessa parte da planta na absorção e no acúmulo do Cd. Este maior acúmulo de Cd na parte aérea resultou no aparecimento de sintomas de toxidez de Cd. Quando se impediu fisicamente o contato das folhas com a solução nutritiva o acúmulo percentual de Cd na parte aérea ficou cerca de 3 vezes menor, enquanto a distribuição deste elemento passou a ser essencialmente similar à observada em aguapé.

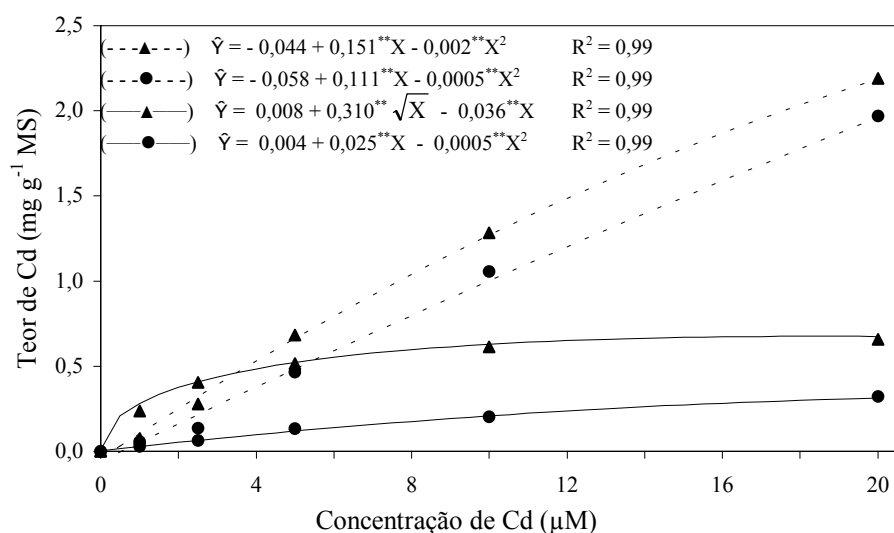


FIGURA 4 - Teor de Cd nas raízes (▲) e parte aérea (●) de aguapé (—) e salvinia (----), em função de concentrações crescentes de Cd na solução de cultivo, durante 10 dias de exposição.

Além disso, sob esta condição experimental, a intensidade dos sintomas de toxidez foi muito menor do que nas plantas em que se permitiu o contato das folhas com a solução de cultivo. Os resultados indicam que em salvinia, sob condições naturais, há um íntimo contato da face adaxial das folhas com a solução de nutritiva permitindo uma significativa absorção foliar.

Efeito do Cd sobre a taxa de crescimento relativo

As taxas de crescimento relativo decresceram intensamente com o aumento da concentração de Cd na solução nutritiva nas duas espécies aquáticas, especialmente em salvinia (Figura 5).

TABELA 3 – Distribuição percentual do Cd acumulado nas duas partes das plantas de aguapé e salvinia, permitindo-se ou não o contato das folhas com a solução de absorção, após três dias de exposição.

Contato das folhas com a solução de absorção	Aguapé		Salvinia	
	Raízes	Parte aérea	“Raízes”	Parte aérea
	%			
Sim	83,1 Aa ¹	16,9 Ab	53,1 Ab	46,9 Aa
Não	82,5 Aa	17,5 Aa	84,2 Ba	15,8 Ba

¹ As médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas, para cada parte da planta, e minúsculas nas linhas, entre espécies para cada tratamento e parte da planta, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste F, a 5% de probabilidade.

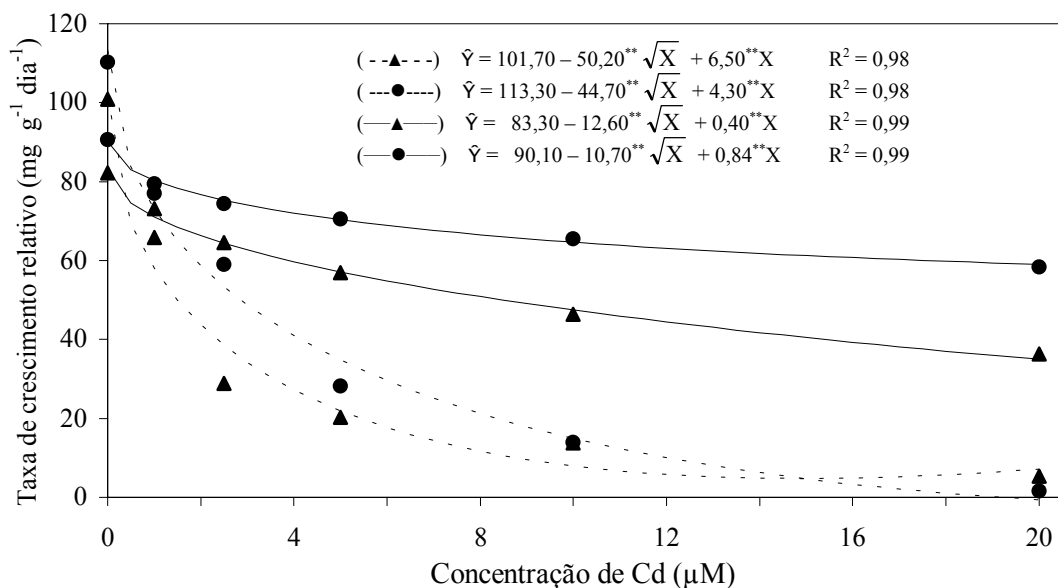


FIGURA 5 - Efeito de concentrações crescentes de Cd sobre a taxa de crescimento relativo de raízes (▲) e da parte aérea (●) de aguapé (—) e salvinia (----), durante 10 dias de exposição.

As concentrações de Cd necessárias para uma redução de 25% no crescimento relativo foram de 3,1 μM para as raízes e de 7,1 μM para a parte aérea de aguapé e de 0,3 μM para as “raízes” e de 0,5 μM para as folhas de salvinia, o que torna claro a maior sensibilidade da salvinia a este metal. As raízes, possivelmente por constituir a parte da planta que está diretamente em contato com o metal pesado, foi a parte da planta, tanto em aguapé como em salvinia, que apresentou os teores mais elevados de Cd (Figura 3 e 4), o que pode explicar a maior diminuição na taxa de crescimento relativo nessa parte da planta. Além disso, em aguapé, talvez porque as folhas tiveram menor contato com a solução nutritiva, a absorção de Cd ocorreu essencialmente pelas raízes, resultando numa diferença mais acentuada entre as partes da planta, do que em salvinia

Uma análise de correlação entre as concentrações de Cd nas raízes e na parte aérea e as respectivas taxas de crescimento relativo, mostrou os seguintes coeficientes de correlação: -0,91 e -0,81 para raiz e parte aérea de aguapé, respectivamente, e -0,72 e -0,78 para raiz e parte aérea de salvinia, respectivamente, todos significativos. Isto indica que a redução da taxa de crescimento relativo, provavelmente, se deveu ao aumento na concentração e na toxicidade do Cd nesses tecidos vegetais.

As plantas de aguapé não apresentaram sintomas visíveis de toxidez ou qualquer outra indicação de que o metabolismo vegetal estivesse sendo alterado, nas concentrações mais baixas de Cd. Nas concentrações mais elevadas, os sintomas de toxidez mais comumente observados foram acúmulo de antocianinas nos pecíolos e estolões, clorose internerval nas folhas e escurecimento acentuado das raízes, além de redução na emissão de novas raízes e folhas. Esses sintomas, entretanto, não são considerados específicos para toxidez de Cd, uma vez que várias deficiências minerais podem resultar em sintomatologia similar (Newman e Haller, 1988). Em salvinia, escurecimento de folhas e “raízes” e inibição da formação de novas plantas tornaram-se facilmente visíveis, já a partir do segundo dia, nas

concentrações de 10 e 20 μM de Cd e, a partir do quinto dia, na concentração de 1 μM de Cd. Altas concentrações de Cd resultaram em inibição do crescimento, engrossamento e encurtamento das raízes (Breckle, 1991).

Em salvinia, a partir de concentrações de Cd de 5 μM , já se observava um decréscimo significativo na capacidade de sobrevivência das plantas. Em soluções nutritivas com 10 e 20 μM de Cd foram observadas cerca de 60 e 100% de morte das plantas, respectivamente. Em aguapé, mesmo no nível mais elevado de Cd não foi observada morte de nenhuma planta.

A exposição de plantas a níveis tóxicos de Cd durante períodos de tempo relativamente longos (cinco ou mais dias), como os utilizados neste experimento, resulta, quase sempre, em forte interferência sobre o crescimento das plantas. É que, sob tais condições a síntese de compostos ricos em grupos tiol, que poderiam complexar e impedir a ação do metal, cai rapidamente (Ding *et al.*, 1994). O Cd, então, provoca decréscimo da fotossíntese, redução na absorção e no transporte de nutrientes (Larsson *et al.*, 1998), danos às membranas, distúrbios hormonais e alteração na atividade de várias enzimas (Barceló e Poschenrieder, 1990), resultando em eventual morte das plantas, como se observou neste experimento, especialmente em salvinia.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq pelas bolsas de pesquisa e à FAPEMIG pelo auxílio financeiro concedido ao Projeto (CBS 2242/97).

REFERÊNCIAS

- ALLAN, J.E. **The preparation of agricultural samples for analysis by atomic absorption spectrometry.** Varian Techtron, 1969. 15 p. (Bulletin 12/69).
- BARCELÓ, J. & POSCHENRIEDER, C. Plant water relations as affected by heavy metal stress: a review. **Journal of Plant Nutrition**, 13:1-37, 1990.

- BRECKLE, S.W. Growth under stress. Heavy metals. In: WAISEL, Y., ESHEL, A, KAFKAFI, U. (Eds.). **The Plant Roots, the Hidden Half**. New York, Marcel Dekker, 1991. p.351-73.
- CAKMAK, I.; WELCH, R.M.; HART, J.; NORVELL, W.A.; OZTURK, L. & KOCHIAN, L.V. Uptake and retranslocation of leaf-applied cadmium (^{109}Cd) in diploid, tetraploid and hexaploid wheats. **Journal of Experimental Botany**, 51:221-226, 2000.
- DING, X.; JIANG, J.; WANG, Y.; WANG, W. & RU, B. Bioconcentration of cadmium in water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) in relation to thiol group content. **Environmental Pollution**, 84:93-96, 1994.
- FETT, J.P.; CAMBRAIA, J.; OLIVA, M.A. & JORDÃO, C.P. Absorption and distribution of cadmium in water hyacinth plants. **Journal of Plant Nutrition**, 17:1219-1230, 1994.
- FUJITA, M. & KAWANISHI, T. Purification and characterization of a Cd-binding complex from the root tissue of water hyacinth cultivated in a Cd^{2+} -containing medium. **Plant and Cell Physiology**, 27:1317-1325, 1986.
- GRANT, C.A.; BUCKLEY, W.T.; BAILEY, L.D. & SELLES, F. Cadmium accumulation in crops. **Canadian Journal of Plant Science**, 78:1-17, 1998.
- GUPTA, M. & DEVI, S. Cadmium sensitivity inducing structural responses in *Salvinia molesta* Mitchell. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, 49:436-443, 1992.
- HART, J.J.; WELCH, R.M.; NORVELL, W.A.; SULLIVAN, L.A. & KOCHIAN, L.V. Characterization of cadmium binding, uptake, and translocation in intact seedlings of bread and durum wheat cultivars. **Plant Physiology**, 116:1413-1420. 1998.
- HOAGLAND, D.R. & ARNON, D.I. **The water-culture method for growing plants without soil**. California Agricultural Experiment Station, 1950. 39 p. (Bulletin 347)
- HUNT, R. **Plant growth analysis**. London, Edward Arnold Limited, 1978. 67 p.
- LARSSON, E.L.; BORNMAN, J.F. & ASP, H. Influence of UV-B radiation and Cd^{2+} on chlorophyll fluorescence, growth and nutrient content in *Brassica napus*. **Journal of Experimental Botany**, 49:1031-1039, 1998.
- MURAMOTO, S. & OKI, Y. Removal of some heavy metals from polluted water by water hyacinth. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, 30:170-177, 1983.
- NEWMAN, S. & HALLER, W.T. Mineral deficiency symptoms of water hyacinths. **Journal of Aquatic Plant Management**, 26:55-58. 1988.
- OBATA, H. & UMEBAYASHI, M. Characterization of cadmium-binding complexes from the roots of cadmium-treated rice plant. **Soil Science and Plant Nutrition**, 32:461-467, 1986.
- OUTRIDGE, P.M. & HUTCHINSON, T.C. Effects of cadmium on integration and resource allocation in the clonal fern *Salvinia molesta*. **Oecologia**, 84:215-223, 1990.
- OUTRIDGE, P.M.; RAUSER, W.E. & HUTCHINSON, T. C. Changes in metal-binding peptides due to acclimation to cadmium transferred between ramets of *Salvinia minima*. **Oecologia**, 88:109-115, 1991.
- RAUSER, W.E. The amount of cadmium associated with Cd-binding protein in roots of *Agrotis gigantea*, maize and tomato. **Plant Science**, 43:85-91, 1986.

RUIZ, H.A. Estimativa dos parâmetros cinéticos Km e Vmax por uma aproximação gráfico-matemática. **Revista Ceres**, 32:79-84, 1985.

ZENK, M. H. Heavy metal detoxification in higher plants – a review. **Gene**, 179:21-30, 1997.