

EFEITOS DA TOXICIDADE DO ZINCO EM FOLHAS DE *Salvinia auriculata* CULTIVADAS EM SOLUÇÃO NUTRITIVA¹

Effects of Zinc Toxicity on Leaves of Salvinia auriculata Cultivated in Nutrient Solution

WOLFF, G.², ASSIS, L.R.³, PEREIRA, G.C.⁴, CARVALHO, J.G.⁵ e CASTRO, E.M.⁶

RESUMO - A macrófita aquática *Salvinia auriculata* tem sido utilizada em vários programas de monitoramento em corpos d'água passíveis de eutrofização, sendo considerada uma planta bioindicadora. Contudo, sabe-se que a salvinia também tem um potencial fitorremediador, acumulando em seus tecidos concentrações consideráveis de poluentes. Com isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial fitorremediador e bioindicador dessa planta, avaliando as características morfológicas da salvinia quando submetida a doses excessivas de zinco (Zn), bem como o teor desse metal acumulado em seus tecidos. Os indivíduos foram coletados em águas livres de contaminação e cultivados sob condições controladas, em vasos com solução nutritiva, em casa de vegetação, e submetidos aos tratamentos com zinco na forma de $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, nas seguintes concentrações: 0; 2,5; 5,0; 7,5; e 10,0 mg L⁻¹. As alterações morfológicas foram observadas diariamente e, após dez dias de exposição dos vegetais ao zinco, procedeu-se à colheita das plantas. As plantas colhidas foram lavadas, secas, pesadas, moídas e digeridas em solução com ácido nítrico e ácido perclórico, obtendo-se extratos para determinação dos teores de zinco por espectrofotometria de absorção atômica. Os resultados indicaram que *S. auriculata* apresentou danos morfológicos, com o desenvolvimento de lesões e necroses marginais nas folhas em concentrações de zinco na solução superiores à permitida pela legislação, porém não diferiram no que se refere ao crescimento populacional. Em relação ao acúmulo, a absorção de zinco pelas plantas aumentou proporcionalmente com a concentração do metal em solução. O zinco, quando em concentrações elevadas, tornou-se tóxico às plantas, sendo as alterações morfológicas de plantas de *S. auriculata* de fácil detecção, podendo ser utilizadas no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos contaminados com zinco.

Palavras-chave: bioindicador, fitorremediação, macrófita aquática.

*ABSTRACT - The aquatic macrophyte Salvinia auriculata has been used in several monitoring programs in bodies of water susceptible to eutrophication, being thus considered a bioindicator. However, salvinia is also known to have phytoremediating potential, accumulating considerable concentrations of pollutants in its tissues. Thus, this work aimed to evaluate the potential of this plant as a phytoremediator and bioindicator by analyzing its morphologic characteristics when submitted to Zinc (Zn) overdoses, as well as to determine the level of this metal accumulated in its tissues. The individuals were collected in water bodies free from contamination and cultivated in vases, using a nutrition solution, under controlled greenhouse conditions and submitted to treatments with Zinc in the form of $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ at the following concentrations: 0; 2.5; 5.0; 7.5 and 10.0 mg L⁻¹. The morphologic alterations were observed daily and after ten days of exposure of the plants to Zinc, the number of individuals per treatment was counted. The plants were then harvested, washed, dried, weighed, ground and digested in a nitric and perchloric acid solution, with extracts being obtained for determination of the Zinc levels by atomic absorption spectrophotometry. The results indicated that *S. auriculata* presented*

¹ Recebido para publicação em 2.4.2008 e na forma revisada em 18.2.2009.

² Engenheira Sanitarista e Ambiental, Mestranda em Ecologia Aplicada DBI/UFLA, <grazielewolff@yahoo.com.br>; ³ Graduanda em Química do UNILAVRAS; ⁴ Biólogo, Mestrando em Ecologia Aplicada DBI/UFLA; ⁵ Professora, Dra., do Dep. de Ciência do Solo – UFLA, bolsista CNPq nível 1D; ⁶ Professor, Dr., do Dep. de Biologia – UFLA, bolsista CNPq nível 2.



morphologic damage, with the development of lesions and marginal necrosis on the leaves with Zinc concentrations, in solution, being superior to that allowed by the legislation, but not different in relation to the population growth. Zinc absorption by the S.auriculata plants increased proportionally to the concentration of the metal in the solution. When at high concentrations, Zinc became toxic to the plants, with their morphologic alterations being easy to detect, allowing them to be used in monitoring Zinc-polluted aquatic ecosystems.

Keywords: bioindicator, phytoremediation, aquatic macrophyte.

INTRODUÇÃO

Os ecossistemas aquáticos têm sido amplamente alterados devido a múltiplos impactos ambientais resultantes de atividades antrópicas. Entre essas atividades, o uso em larga escala de fertilizantes e o aumento das atividades industriais e de mineração têm promovido a contaminação de solo, cursos d'água e lençol freático por metais (Malavolta, 1994).

O zinco (Zn), elemento comumente encontrado na crosta terrestre, é um micronutriente essencial às plantas, porém, em concentrações elevadas, esse metal atinge níveis tóxicos no ambiente e pode afetar o crescimento e metabolismo normal de espécies vegetais (Marschner, 1995). As maiores emissões de zinco para o ambiente são os resíduos (escória) metalúrgicos, bacias de rejeitos da mineração, cinzas de processos de combustão e o uso de fertilizantes à base de zinco, como o óxido de zinco, sulfato de zinco, nitrato de zinco e cloreto de zinco. Esse metal atinge os corpos d'água por meio do processo de lixiviação.

Uma das comunidades afetadas pelo excesso de zinco na água é a da macrófitas aquáticas. No Brasil ocorrem extensas áreas cobertas por macrófitas na maioria dos ecossistemas aquáticos, porém ainda são escassos os estudos sobre essas comunidades devido à idéia comum de que o papel desses vegetais nos ecossistemas não é relevante (Oliveira et al., 2005).

A *Salvinia auriculata* é uma macrófita livre e flutuante, muito comum em água doce, sendo, sob condições favoráveis, rapidamente disseminada por propagação vegetativa; ela coloniza extensas superfícies de água em um tempo reduzido e apresenta ampla distribuição geográfica. Pode ser, por isso, considerada planta daninha, por proliferar de forma indesejada

em diversos ecossistemas aquáticos (Henry-Silva et al., 2006). As elevadas taxas de crescimento e a sensibilidade dessas plantas a diferentes agentes tóxicos justificam a sua utilização como bioindicadores de poluição em ecossistemas aquáticos (Suñe et al., 2007). Contudo, há grande interesse não somente em detectar possíveis contaminações, como também em encontrar meios que possibilitem a recuperação do meio ambiente (Oliveira et al., 2001). Assim, várias descobertas reforçam a idéia de se testar um grande número de macrófitas pertencentes a grupos diferentes, a fim de obter conhecimento mais significativo da acumulação de metal por essas plantas (Esteves, 1998).

Segundo Mudd & Kozlowski (1975, apud Silva et al., 2000), existem dois tipos de bioindicadores: de acumulação, também chamados de fitorremediadores ou fitoextratores, em que as espécies devem ser capazes de acumular concentrações relativamente elevadas de dado poluente sem que o indivíduo seja danificado; e os bioindicadores de reação, em que o indivíduo é suscetível ao poluente, apresentando mudanças morfológicas, citológicas, entre outras.

Com isso, este trabalho objetivou realizar estudos laboratoriais em plantas de *Salvinia auriculata* quando expostas a concentrações aceitáveis de zinco, bem como a concentrações elevadas, a fim de avaliar o grau de toxidez e acúmulo do metal na planta e verificar se esta é um bioindicador e/ou fitorremediador em águas contaminadas por zinco.

MATERIAL E MÉTODOS

Plantas aquáticas da espécie *S. auriculata* foram coletadas na represa do Funil, em Lavras-MG. Essas amostras foram levadas para o

Laboratório de Nutrição Mineral de Plantas na Universidade Federal de Lavras – UFLA, onde foram lavadas em solução de hipoclorito de sódio 1% e, logo após, em água corrente e água destilada.

As plantas foram previamente selecionadas quanto a uniformidade de tamanho e aspectos das folhas e raízes, a fim de manter a homogeneidade, e então colocadas em recipientes de polietileno, com capacidade de 20 L, contendo solução nutritiva de Hoagland-Arnon (1950) modificada com 1/5 da força iônica. As macrófitas foram mantidas nesta solução por cinco dias, em casa de vegetação. Após o período de adaptação, as plantas foram transferidas para vasos com capacidade de 1,0 L de solução, (4 indivíduos/vaso), mantendo-se a solução de Hoagland-Arnon modificada. Esses vasos constituíram a parcela experimental e foram dispostos em esquema 1 x 5: uma espécie e cinco doses crescentes de zinco, em delineamento formado por blocos inteiramente casualizados, com quatro repetições.

As concentrações de zinco foram determinadas com base no valor máximo permitido (VMP) de zinco total em corpos de água doce classe 3 (CONAMA, 2005) e para água destinada ao consumo humano (Brasil, 2004). Em ambos os casos, o seu VMP é de 5 mg L⁻¹ (Tabela 1).

As alterações morfológicas nas folhas foram observadas diariamente e, após dez dias de exposição, procedeu-se à colheita das plantas. As plantas foram lavadas, secas em estufa com circulação de ar a 65 °C, até massa constante, pesadas e moídas em moinho tipo Willey equipado com peneira com malha de 0,38 mm. Em seguida, efetuou-se a digestão com mistura de ácido nítrico e ácido perclórico do material seco e moído, obtendo-se extratos para determinação dos teores de zinco por espectrofotometria de absorção atômica. O acúmulo de

zinco nas plantas foi calculado com base nas concentrações e na produção de matéria seca.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (teste F, P < 5%), e as médias, estudadas por meio de regressão polinomial.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com Lagriffoul et al. (1998), a avaliação da presença de metal pesado em áreas contaminadas é realizada, primeiramente, pela análise visual, pois as plantas apresentam sintomas como necrose nas folhas, coloração vermelho-castanha, redução na biomassa e diminuição do rendimento, e essas foram as características avaliadas durante o experimento.

Não houve alterações morfológicas em *S. auriculata* nem surgimento de novos indivíduos no primeiro e segundo dias do experimento. No terceiro e quarto dias foi observado o aparecimento de pelo menos um novo indivíduo em todos os tratamentos. Contudo, os indivíduos dos tratamentos T3 (7,5 mg L⁻¹) e T4 (10 mg L⁻¹) apresentaram coloração amarelada e manchas avermelhadas em torno da nervura central das folhas, indicando o surgimento de cloroses. De acordo com Fontes & Cox (1998), os sintomas de toxicidade de zinco em plantas são caracterizados por redução no crescimento e clorose de folhas. A ocorrência de clorose tem relação com a deficiência de vários elementos responsáveis pela formação de cloroplastos e síntese de clorofila (Breckle & Kahle, 1992). A deficiência desses elementos pode ser resultado da presença do zinco, que pode inibir, por competição, a absorção de outros íons. Um dos que podem ter sua absorção inibida pelo zinco é o ferro, devido à semelhança nos raios iônicos desses elementos (0,083 nm) (Malavolta, 1994).

Após dez dias da exposição das plantas ao zinco, foi possível observar morte de indivíduos nos tratamentos T3 e T4, além de escurecimento e pouco desenvolvimento das raízes. Soares et al. (2001), estudando a toxicidade de zinco em *Eucalyptus maculata*, verificaram que as doses de 1.200 e 1.600 µmol L⁻¹ de zinco na solução nutritiva causaram morte das plantas, deixando-as com as folhas esverdeadas e

Tabela 1 - Concentração em mg L⁻¹ de Zn sob a forma de ZnSO₄·7H₂O nos tratamentos

Tratamento	Concentração de Zn (mg L ⁻¹)	Percentual do VMP (%)
Testemunha	0	0
Tratamento 1 (T1)	2,5	50
Tratamento 2 (T2)	5,0	100
Tratamento 3 (T3)	7,5	150
Tratamento 4 (T4)	10,0	200



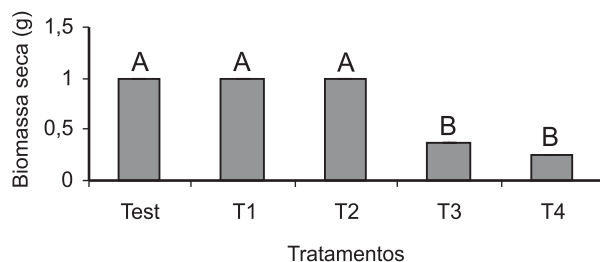
aspecto coriáceo; até em concentrações menores as plantas apresentaram raízes escuras e pouco desenvolvidas.

Em relação à exposição a outros metais, *S. auriculata* apresenta vários sintomas de toxicidade semelhantes aos verificados no experimento. Oliveira et al. (2001) verificaram que, em salvinia, a partir de concentrações de $5 \mu\text{mol L}^{-1}$ de cádmio, é observado decréscimo significativo na capacidade de sobrevivência das plantas. Guimarães et al. (2006), estudando o efeito do arsênio nessa planta, constataram a ocorrência de áreas necróticas na superfície foliar, com formato arredondado e tonalidade marrom-escura.

S. auriculata apresentou danos semelhantes quando exposta a outros elementos, como observado por Peixoto et al. (2005), ao avaliarem os efeitos do flúor em folhas dessa planta. Esses autores evidenciaram a ocorrência de alterações morfológicas, com o desenvolvimento de lesões nos tricomas e na porção adaxial do limbo foliar.

No final do experimento, os tratamentos não diferiram significativamente entre si quanto ao número de indivíduos, porém foi observado que os tratamentos T3 e T4 mostraram menor biomassa quando comparados aos demais (Figura 1), e os novos indivíduos apresentaram menor área foliar e forma assimétrica, além de cloroses e encarquilhamento da lâmina foliar.

O aumento das doses de zinco na solução nutritiva exerceu efeito negativo sobre o crescimento das plantas e, conseqüentemente, da biomassa produzida. Os tratamentos com



Médias seguidas da mesma letra, nas barras, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$).

Figura 1 - Quantificação da biomassa seca de *S. auriculata* por tratamento.

maior concentração de zinco influenciaram negativamente o desenvolvimento das macrofitas; a concentração de $7,5 \text{ mg L}^{-1}$ causou redução de 25% na matéria seca e a concentração de 10 mg L^{-1} , de 38%.

Sridhar et al. (2007), estudando o efeito do acúmulo de zinco em plantas de cevada, observaram efeito negativo no desenvolvimento das plantas submetidas a concentrações elevadas do metal (50 e 150 mmol L^{-1}), como a diminuição do percentual de água na biomassa fresca e seca da planta, bem como decréscimo acentuado na altura média dos indivíduos.

O acúmulo de zinco em *S. auriculata* aumentou proporcionalmente com o aumento da concentração de zinco em solução (Figura 2).

Vários autores, avaliando a absorção e o acúmulo de metais por salvinia, verificaram que a planta absorve quantidade significativa do metal com o aumento do tempo de exposição. Além disso, a quantidade de metal adsorvido e absorvido aumenta com a elevação na concentração desse metal na solução de cultivo (Oliveira et al., 2001; Guimarães et al., 2006; Sridhar et al., 2007).

Formas solúveis de zinco estão prontamente absorvidas e apresentam correlação linear entre absorção pelas plantas e concentração do nutriente no substrato (Malavolta, 1994).

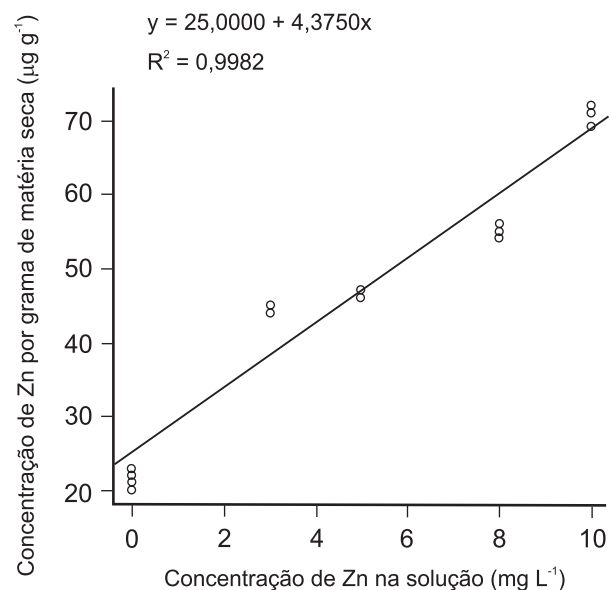


Figura 2 - Regressão linear ajustada para acúmulo de zinco na matéria seca de *Salvinia auriculata*.

Espinoza-Quiñones et al. (2005) estudaram a remoção de macro e micronutrientes por *Salvinia* sp. em ambiente natural e constataram que a planta acumulou, na matéria seca, em 18 dias de exposição em água com $5,8 \mu\text{g L}^{-1}$ desse metal, $6,8 \mu\text{g g}^{-1}$ de zinco. Essa concentração acumulada aumentou com o aumento da exposição, decrescendo a partir do 46º dia. Já em laboratório esses autores verificaram que a concentração acumulada de metais pela macrófita também aumentou com o incremento da concentração do elemento na água.

Verificou-se que *Salvinia auriculata*, quando exposta, em soluções nutritivas, a concentrações de zinco superiores às permitidas pela legislação, apresentou alterações morfológicas e lesões. Esse fato confirma que, em elevadas concentrações, o zinco é altamente tóxico a essa planta. Como essas alterações nas plantas são de fácil detecção, elas podem ser utilizadas no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos contaminados por esse metal. Contudo, a macrófita acumulou concentrações consideráveis de zinco em seus tecidos, demonstrando potencial como fitorremediador de ambientes aquáticos impactados por esse metal.

LITERATURA CITADA

- BRASIL. Ministério da Saúde. **Padrões de potabilidade da água**. Portaria n. 518, 2004.
- BRECKLE, S. W.; KAHLE, H. Effects of toxic heavy metals (Cd, Pb) on growth and mineral nutrition of beech (*Fagus sylvatica* L.). **Vegetatio**, v. 101, n. 1, p. 43-53, 1992.
- CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE – CONAMA. **Padrões de qualidade para corpos d'água**. Resolução n. 357, de 17 de março de 2005.
- ESPINOZA-QUIÑONES, F. R. et al. Removal of heavy metal from polluted riverwater using aquatic Macrophytes *Salvinia* sp. **Braz. J. Physics**, v. 35, n. 3B, p. 744-746, 2005.
- ESTEVES, F. A. **Fundamentos de limnologia**. 2.ed. Rio de Janeiro: Interciência/FINEP, 1998. 568 p.
- FONTES, R. L. F.; COX, R. Zinc toxicity in soybean grown at high iron concentration in nutrient solution. **J. Plant Nutr.**, v. 21, n. 8, p. 1723-1730, 1998.
- GUIMARÃES, F. P. et al. Estudos laboratoriais de acúmulo e toxicidade de arsênio em *Eichhornia crassipes* e *Salvinia auriculata*. **J. Braz. Soc. Ecotoxicol.**, v. 2, p. 109-113, 2006.
- HENRY-SILVA, G. G.; CAMARGO, A. F. M. Composição química de macrófitas aquáticas flutuantes utilizadas no tratamento de efluentes de aquicultura. **Planta Daninha**, v. 24, n. 1, p. 21-28, 2006.
- HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. **The water-culture method for growing plants without soil**. Berkeley: Agricultural Experimental Station, University of California, 1950. 39 p. (Circular, 347)
- LAGRIFFOUL, A. et al. Cadmium toxicity effects on growth, mineral and chlorophyll contents, and activities of stress related enzymes in young maize plants (*Zea mays* L.) **Plant Soil**, v. 200, n. 2, p. 241-250, 1998.
- MALAVOLTA, E. **Fertilizantes e seu impacto ambiental: micronutrientes e metais pesados, mitos, mistificações e fatos**. São Paulo: ProduQuímica, 1994. 153 p.
- MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. San Diego: Academic Press, 1995.
- OLIVEIRA, J. A. et al. Absorção e acúmulo de cádmio e seus efeitos sobre o crescimento relativo de plantas de salvinia e aguapé. **R. Bras. Fisiol. Vegetal**, v. 13, n. 3, p. 329-341, 2001.
- OLIVEIRA, N. M. B. et al. Capacidade de regeneração de *Egeria densa* nos reservatórios de Paulo Afonso, BA. **Planta Daninha**, v. 23, n. 2, p. 363-369, 2005.
- PEIXOTO, P. H.; PIMENTA, D. S.; ANTUNES, F. Efeitos do flúor em folhas de plantas aquáticas de salvinia. **R. Pesq. Agropec. Bras.**, v. 40, n. 8, p. 727-734, 2005.
- SILVA, L. C.; AZEVEDO, A. A.; SILVA, E. A. M. Flúor em chuva simulada: sintomatologia e efeitos sobre a estrutura foliar e o crescimento de plantas arbóreas. **R. Bras. Bot.**, v. 23, n. 4, p. 385-393, 2000.
- SRIDHAR, B. B. M. et al. Effects of Zn and Cd accumulation on structural and physiological characteristics of barley plants. **Braz. J. Plant Physiol.**, v. 19, n. 1, p. 1522, 2007.
- SOARES, C. R. F. S. et al. Toxidez de zinco no crescimento e nutrição de *Eucalyptus maculata* e *Eucalyptus urophylla* em solução nutritiva. **Pesq. Agropec. Bras.**, v. 36, n. 2, p. 339348, 2001.
- SUÑE, N. et al. Cadmium and chromium removal kinetics from solution by two aquatic macrophytes. **Environ. Poll.**, v. 145, p. 467-473, 2007.

