

Estudos Laboratoriais de Acúmulo e Toxicidade de Arsênio em *Eichhornia crassipes* e *Salvinia auriculata*

F. P. GUIMARÃES,* C. Q. GOMES, A. B. S. MAGALHÃES, T. V. FREITAS, J. A. OLIVEIRA & R. AGUIAR

Departamento de Biologia Vegetal, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil

RESUMO

A avaliação dos efeitos tóxicos do arsênio (As) e a potencialidade de tolerância de *Eichhornia crassipes* e *Salvinia auriculata* ante a este elemento é um importante passo na seleção de plantas a serem utilizadas como potenciais fitorremediadoras. Os indivíduos dessas espécies foram coletados em locais livres de contaminação, desinfetados, aclimatados e submetidos aos tratamentos com As na forma de arseniato de sódio nas concentrações: 0, 0,5, 2,5 e 5,0 mg.L⁻¹. Após sete dias de exposição ao As, as plantas foram lavadas em solução de HCl 0,1N, separadas em raiz e parte aérea, secadas, pesadas e digeridas em água régia. A determinação do As absorvida pelas plantas foi feita por espectrometria de emissão em plasma-ICP. Os resultados indicaram que *S. auriculata* acumulou mais As, apresentando necroses marginais nas folhas, enquanto *E. crassipes* não apresentou nenhuma alteração morfológica visível. A absorção de As pelas plantas aumentou proporcionalmente com a concentração em solução, sendo que *S. auriculata* foi mais sensível. Esse padrão foi observado tanto para raízes quanto para as folhas nas duas espécies, sendo o acúmulo maior nas raízes. No tratamento de 5 mg.L⁻¹, *S. auriculata* acumulou uma média de 146,66 µg g⁻¹ matéria seca de raiz e *E. crassipes* acumulou em média 56,29 µg g⁻¹ matéria seca de raiz. Provavelmente, o maior acúmulo de As nessa concentração se deve à maior disponibilidade do elemento e à maior proporção arsênio/fosfato na solução, visto que o processo de absorção do arseniato é competitivo com o fosfato. Foram observados, ao longo do experimento, que as plantas-mãe de *S. auriculata*, mesmo tendo os tecidos danificados, foram capazes de emitir plantas-filhas morfológicamente saudáveis. Sugere-se que esse mecanismo de tolerância possa estar relacionado a algum processo que impeça a translocação do arsênio para as plantas-filhas ou a um processo de aclimação à poluição.

Palavras-chave: arsênio, toxicidade, acúmulo, *Salvinia auriculata*, *Eichhornia crassipes*.

ABSTRACT

Laboratory study of arsenic accumulation and toxicity in *Eichhornia crassipes* and *Salvinia auriculata*

The evaluation of the toxicity effects of arsenic (As) and the tolerance potential of *Eichhornia crassipes* and *Salvinia auriculata* regarding to this element, is an important step in the selection of plants for the purpose of phytoremediation. Both species were collected at clean water bodies, disinfected, acclimatized and submitted to treatments with As as sodium arsenate at the concentrations: 0, 0.5, 2.5 and 5.0 mg.L⁻¹. After seven days of exposure to As, the plants were washed in a solution of HCl 0.1N. Shoot and root tissues were separated, dried and weighed. The As content analyses were carried out by acid digestion of dried tissue samples followed by measurement of total concentration of arsenic by Inductively-Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy (ICP-AES). The results indicate that *S. auriculata* accumulated more As, presenting marginal necroses in leaves, while, *E. crassipes* didn't present any visible morphological alteration. The As absorption for both species increased substantially with the external concentration and *S. auriculata* was more sensitive. This effect was found either for roots and shoots in both species, highlight, the higher accumulation in roots. In the treatment of 5.0 mg.L⁻¹ *S. auriculata* accumulated in roots an average of 146.66 µg As g⁻¹ dry weight and *E. crassipes* accumulated 56.29 µg g⁻¹ As dry weight. Probably, the highest As accumulation in this concentration in both species, was

*Corresponding author: Fernanda Pereira Guimarães, e-mail: fpguimaraes@vicosa.ufv.br.

caused by the highest proportion of arsenic/phosphate in the solution, since the arsenate absorption competes with phosphate. It was observed, along the experiment, that the “parent” plants of *S. auriculata*, although with leaves damaged, produced “daughter” plants healthy. This probably tolerance mechanism can be related to some process that blocks the translocation of arsenic to “daughter” plants or can be a process of acclimatization to the pollution.

Key words: arsenic, toxicity, accumulation, *Salvinia auriculata*, *Eichhornia crassipes*.

INTRODUÇÃO

A contaminação de água por arsênio tem recebido enorme atenção devido ao grande potencial de causar doenças ao homem (Matschullat *et al.*, 2000), como: conjuntivite, hiperqueratose, hiperpigmentação, doenças cardiovasculares, distúrbios do sistema nervoso central e vascular periférico, câncer de pele e gangrena nos membros (Léonard & Lauwerys, 1980). A principal forma de contaminação do homem por arsênio é através da ingestão de água ou peixes contaminados por esse elemento (Matschullat *et al.*, 2000).

A contaminação de ambientes aquáticos por arsênio tem origens naturais e antropogênicas. As fontes naturais são rochas que possuem o arsênio em sua constituição, que ao serem lavadas liberam o mesmo para os corpos d’água. A contaminação de origem antropogênica, principal fonte de contaminação dos ambientes aquáticos, ocorre devido à utilização de produtos agrícolas ou de rejeitos de mineração. Os insumos agrícolas podem conter compostos arsenícos, como o arseniato de chumbo ($PbHAsO_4$) e o arseniato de cálcio ($CaAsO_4$), que são facilmente lixiviados para os corpos d’água (Calzada *et al.*, 1998). Os rejeitos da mineração, através da drenagem ácida, disponibilizam vários metais pesados, como o arsênio, o cádmio e o mercúrio, contaminando o meio ambiente, principalmente os aquáticos (Peterson *et al.*, 1996; Matschullat *et al.*, 2000; Santana-Filho, 2000), o que torna a atividade minerária bastante impactante.

Neste contexto, torna-se importante o estudo de espécies de plantas potenciais bioindicadoras ou fitorremediadoras de ambientes poluídos por arsênio. Várias plantas aquáticas têm sido estudadas e sugeridas como alternativas para solução de problemas de contaminação ambiental, para avaliar a qualidade da água, monitorar metais pesados, dentre outros (Dembitsky & Rezanka, 2003). Os mecanismos de tolerância das plantas a metais pesados podem variar desde a imobilização do metal no meio extracelular até imobilização do metal no vacúolo, com o auxílio de fitoquelatinas (Larcher, 2000).

A avaliação dos efeitos tóxicos do arsênio, bem como da potencialidade de tolerância de *Eichhornia crassipes* (aguapé) e *Salvinia auriculata* (salvínia) diante desse elemento, é um importante passo na seleção de plantas que possam ser utilizadas como potenciais bioindicadoras ou fitorremediadoras de ambientes contaminados por arsênio.

Por serem espécies que apresentam alta taxa de ganho de biomassa, podem ser benéficamente utilizadas como

extratores de poluentes aquáticos. Dessa forma, é de fundamental importância conhecer os efeitos do arsênio sobre estas plantas, bem como a sua potencialidade de absorção, a fim de que possam ser utilizadas em processos de bioindicação e fitorremediação de ambientes poluídos.

O objetivo deste trabalho foi determinar o potencial de absorção de arsênio por *Eichhornia crassipes* e *Salvinia auriculata*, bem como a sintomatologia apresentada por estas plantas quando expostas ao arsênio.

MATERIAL E MÉTODOS

Plantas de *Eichhornia crassipes* (aguapé) e *Salvinia auriculata* (salvínia) foram coletadas em tanques, livres de contaminação por arsênio, da Universidade Federal de Viçosa. As plantas passaram por um processo de desinfecção que consistiu na imersão em solução de hipoclorito 1%, por alguns segundos, seguida da lavagem em água corrente e água destilada.

As plantas foram previamente selecionadas, a fim de manter a homogeneidade, e transferidas para vasos com capacidade de 1,5 L de solução. Plantas de aguapé (3 plantas/vaso) e de salvínia (2 plantas/vaso) foram mantidas em solução nutritiva de Hoagland com meia força iônica, por 3 dias, em sala de crescimento sob condições fotoautotróficas adequadas. Essas condições consistiam em temperatura entre 23 e 25°C e fotoperíodo de 16 horas de luz.

Após os três dias de aclimação as plantas foram expostas às seguintes concentrações de arsênio: 0, 0,5, 2,5, 5,0 mgL⁻¹, na forma de $Na_2HAsO_4 \cdot 7H_2O$, com pH corrigido diariamente para 6,5.

Diariamente foram observadas as alterações morfológicas nas folhas de *E. crassipes* e *S. auriculata*. Após sete dias de exposição, as plantas foram lavadas em solução de ácido nítrico (10%) e em seguida em água desmineralizada com a finalidade de remover o arsênio adsorvido.

As plantas foram separadas em raiz e parte aérea, sendo secas em estufa a 70°C por três dias para obtenção do peso seco. As amostras secas foram mineralizadas com água régia (1:4, v/v, HCl:HNO₃) em blocos digestores, diluídas em água deionizada, filtradas e analisadas por espectrometria de emissão em plasma-ICP para a determinação da concentração de arsênio acumulado pelas plantas.

O experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado com três repetições para cada tratamento.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Indivíduos de *Salvinia auriculata* foram visualmente mais sensíveis ao arsênio que indivíduos de *Eichhornia crassipes*, que praticamente não apresentaram nenhuma alteração morfológica.

Durante o experimento, *S. auriculata* apresentou necroses marginais a partir do terceiro dia de exposição a $0,5 \text{ mgL}^{-1}$ de arsênio. Já nas concentrações de $2,5 \text{ mgL}^{-1}$ e de $5,0 \text{ mgL}^{-1}$ os sintomas foram visíveis a partir do segundo dia. As áreas das necroses apresentadas pelos indivíduos expostos a $5,0 \text{ mgL}^{-1}$ de arsênio foram maiores do que as demais (Figura 1). Após sete dias de experimento as folhas de salvinia se encontravam em estado de senescência.

Eichhornia crassipes não apresentou alterações morfológicas (Figura 2) nas diferentes concentrações de arsênio, sendo um indicativo de que esta planta pode funcionar como um potencial fitorremediador.

As duas espécies estudadas acumularam mais arsênio nas raízes do que nas folhas. *S. auriculata* acumulou em média $146,66 \mu\text{g}$ de As g^{-1} de matéria seca na raiz, e *E. crassipes* acumulou em média $56,29 \mu\text{g}$ de As g^{-1} de MS de raiz.

Provavelmente, os sintomas apresentados por salvinia se devem ao maior acúmulo de arsênio por estas plantas. Ao contrário, o aguapé não apresentou sintomas visuais devido ao menor acúmulo de As . Provavelmente essa planta possui mecanismos que impedem a absorção e/ou acúmulo de arsênio.

O acúmulo de As em raiz e folha das duas espécies aumentou proporcionalmente com o aumento da concentração de arsênio em solução (Figuras 3 e 4). Esse padrão foi verificado através de uma regressão com ajuste em função logística. No entanto, o experimento não evidenciou o valor máximo de acumulação de As , sendo necessária maior concentração deste em solução para que as plantas atinjam esse pico.

O aumento do acúmulo de arsênio pelas plantas está relacionado ao aumento da proporção arsênio/fosfato nos diferentes tratamentos, visto que estes elementos competem pelo mesmo sítio de absorção devido à sua similaridade estrutural (Planas & Healey, 1978; Sanders, 1979). Dessa forma, a sintomatologia mais freqüente do arsênio está relacionada com a deficiência de fósforo, fazendo com que as plantas apresentem pouco crescimento e ocorram necroses amarronzadas nas folhas mais velhas (Taiz & Zeiger, 1991).

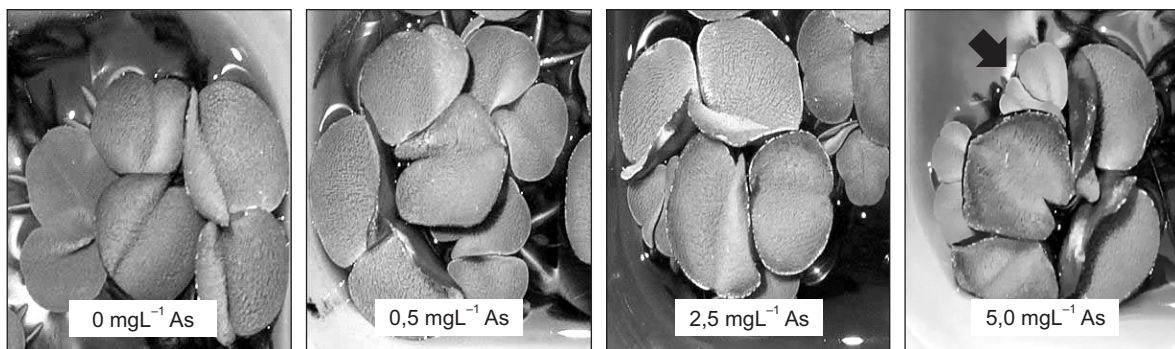


Figura 1 — Alterações morfológicas em plantas de *Salvinia auriculata* expostas a diferentes concentrações de arsênio. Seta indica folhas de plantas-filhas saudias, sem sintomas de toxicidez de arsênio.

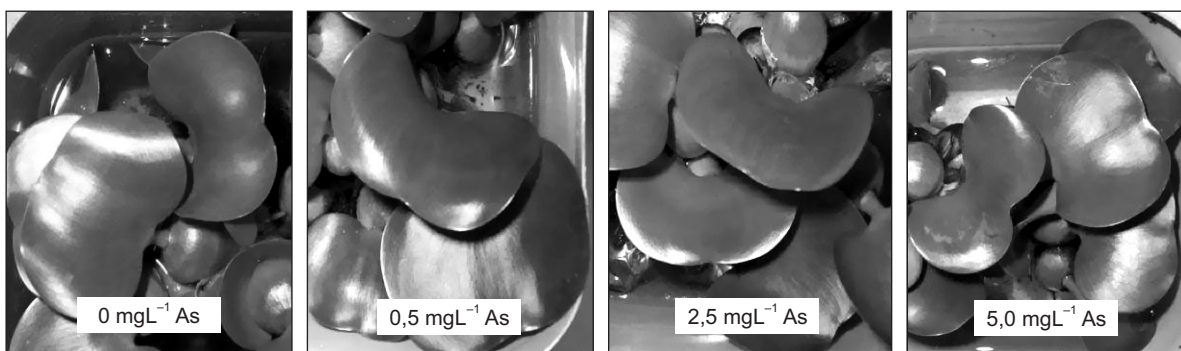


Figura 2 — Plantas de *Eichhornia crassipes* expostas a diferentes concentrações de arsênio.

Apesar de salvinia ter apresentado sintomas de toxicidade ao arsênio, as plantas-mãe foram capazes de emitir plantas-filhas morfologicamente normais (Figura 1), indicando impedimento da translocação do As ou um processo de aclimação. Este mecanismo de tolerância pode envolver a produção de fitoquelatinas, como ocorre com plantas tolerantes a Cd e Cu (Outridge *et al.*, 1991; Outridge & Hutchinson, 1991). O aumento das fitoquelatinas nas plantas-filhas pode ocorrer devido à translocação de fitoquelatinas das plantas-mãe via tecido vascular ou da síntese “*de novo*” pelas próprias plantas-

filhas em resposta à translocação dos metais (Outridge *et al.*, 1991; Outridge & Hutchinson, 1991).

Este estudo mostrou que *S. auriculata* foi sensível ao As, podendo ser indicada como modelo para estudos de bioindicação em áreas contaminadas. *E. crassipes* foi tolerante ao elemento, demonstrando potencial como fitorremediador de ambientes aquáticos impactados por arsênio.

No entanto, são necessários estudos mais detalhados sobre as rotas metabólicas, processos de especiação, compartimentalização e translocação do arsênio nos tecidos da planta.

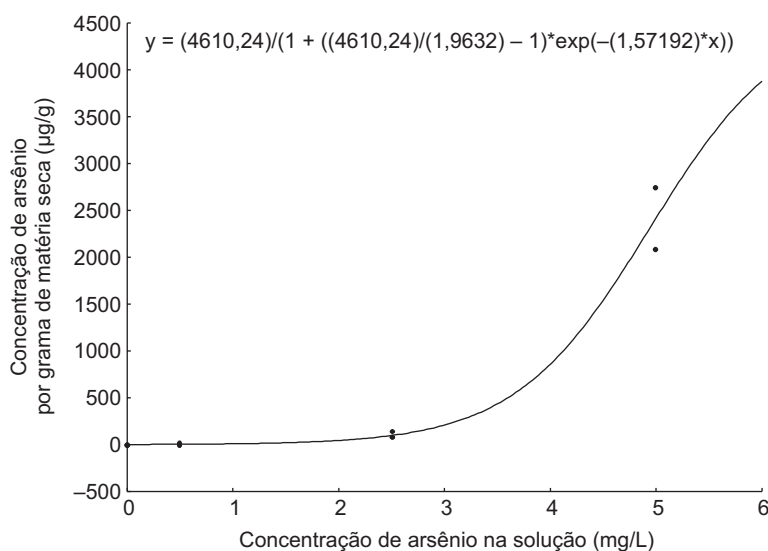


Figura 3 — Regressão não linear ajustada com uma função logística para acumulação de arsênio nas raízes de *Eichhornia crassipes* ($R^2 = 0,976$). Os tratamentos foram $0,5 \text{ mgL}^{-1}$, $2,5 \text{ mgL}^{-1}$ e $5,0 \text{ mgL}^{-1}$ de arsênio na solução.

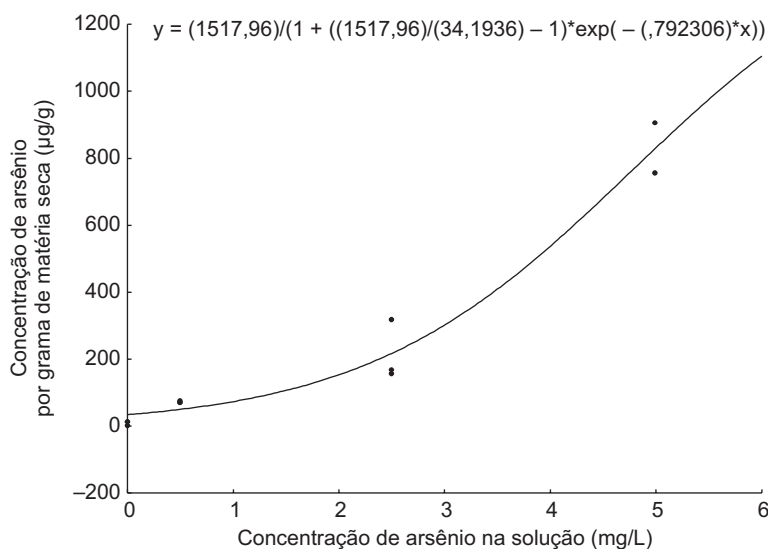


Figura 4 — Regressão não linear ajustada com uma função logística para acumulação de arsênio nas “raízes” de *Salvinia auriculata* ($R^2 = 0,968$). Os tratamentos foram $0,5 \text{ mgL}^{-1}$, $2,5 \text{ mgL}^{-1}$ e $5,0 \text{ mgL}^{-1}$ de arsênio na solução.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CALZADA, A. T., LOJO, M. C. V., BECEIRO-GONZÁLES, E., RODRIGUES, E. A. & RODRIGUES, D. P., 1998, Determination of arsenic species in environmental samples: use alga *Chlorella vulgaris* for arsenic (III) retention. *Trends Analytical Chemistry*, 3: 167-175.
- DEMBITISKY, V. M. & REZANKA, T., 2003, Natural occurrence of arseno compounds in plants, lichens, algal species and microorganisms. *Plant Science*, 165: 1177-1192
- LARCHER, W., 2000, *Ecofisiologia vegetal*. RiMa Editora, São Carlos, 531p.
- LÉONARD, A. & LAUWERYS, R. R., 1980, Carcinogenicity, teratogenicity and multigenicity of arsenic. *Mutation Research*, 75: 49-62.
- MATSCHULLAT, J., BORBA, R. P., DESCHAMPS, E., FIGUEIREDO, B. R., GABRIO, T. & SCHEWENK, M., 2000, Human and environmental contamination in the Iron Quadrangle. Brazil. *Applied Geochemistry*, 15: 193-202.
- OUTRIDGE, P. M. & HUTCHINSON, T. C., 1991, Induction of cadmium tolerance by acclimation transferred between ramets of the clonal fern *Salvinia minima* Baker. *New Phytol.*, 117: 597-605.
- OUTRIDGE, P. M., RAUSER, W. E. & HUTCHINSON, T. C., 1991, Changes in metal-binding peptides due to acclimation to cadmium transferred between ramets of *Salvinia minima*. *Oecologia*, 88: 109-115.
- PETERSON, H. G., NYHOLM, N., NELSON, M., POWELL, R., HUANG, P. M. & SCROGGINS, R., 1996, Development of aquatic plant bioassays for rapid screening and interpretive risk assessment of metal mining liquid waste waters. *Water Sci. Tech.*, 33: 155-161.
- PLANAS, D. & HEALEY, F. P., 1978, Effects of arsenate on growth and phosphorus metabolism of phytoplankton. *Journal Phycology*, 14: 337-341.
- SANDERS, J. G., 1979, Effects of arsenic speciation and phosphate concentration on arsenic inhibition of *Skeletonem costatum* (Bacillariophyceae). *Journal Phycology*, 15: 424-428.
- SANTANA-FILHO, S. *Impactos do processo de drenagem ácida sobre recursos hídricos no Estado de Minas Gerais*. 2000. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Viçosa, 173p.
- TAIZ, L. & ZEIGER, E., 1991, *Plant physiology*. The Benjamin Cummings Publishing Company, Inc, 559p.