



ANATOMIA E MODIFICAÇÕES NO SISTEMA ANTIOXIDANTE DE FOLHAS DE AGUAPÉ NA PRESENÇA DE CÁDMIO

Evaristo Mauro de Castro

Fabricio José Pereira; Marines Ferreira Pires; Cynthia de Oliveira; Ariany Viana Gomes

Universidade Federal de Lavras, Departamento de Biologia, Setor de Botânica Estrutural, Caixa Postal 37, Campus Universitário, CEP: 37200 - 000, Lavras - MG, emcastro@ufla.br, fabriciopereira@dbi.ufla.br, marinespires@gmail.com, cynthia_ufla@yahoo.com.br, ary_viana@hotmail.com

INTRODUÇÃO

A industrialização, mineração e atividades agrícolas promoveram um grande produção e deposição de elementos tóxicos no ambiente, contudo, a fitorremediação (uso plantas para a descontaminação de tais ambientes) é uma alternativa para a sua descontaminação (Gratão *et al.*, 005). O cádmio (Cd) restringe o crescimento e desenvolvimento de muitas plantas, podendo ser liberado no ambiente por estações de energia, sistemas de aquecimento, indústria metalúrgica e por veículos (Benavides *et al.*, 005). A fitorremediação de águas contaminadas pode ser realizada por macrófitas nativas, sendo o aguapé (*Eichhornia crassipes* Mart.) uma espécie nativa pertencente à família Pontederiaceae, com potencial de hiperacumulação de Cd (Oliveira *et al.*, 001). Apesar da capacidade de acumular Cd do aguapé, não se conhece quais mecanismos anatômicos e fisiológicos estão associados com essa tolerância à contaminação por esse elemento.

OBJETIVOS

O objetivo desse trabalho foi avaliar as modificações na atividade do sistema antioxidante e na anatomia foliar do aguapé cultivado em solução nutritiva contaminada por Cd.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas plantas de aguapé (*Eichhornia crassipes* Mart.) em açudes naturais formados por uma nascente localizada à 60 m livres de contaminação por Cd. As plantas foram lavadas em água corrente e cultivadas em casa de vegetação em solução de Hoagland a 40% por 30 dias. As plantas foram padronizadas e cultivadas em vasos contendo 4 L de solução nutritiva de Hoagland à 20% contendo concentrações crescentes de Cd sendo: 0; 0,4; 0,8; 1,6 e 3,2 mg L⁻¹ baseadas na Res. 357 do CONAMA, correspondendo ao controle (0 mg L⁻¹) e 100, 200, 400 e 800 vezes a concentração máxima permitida, respectivamente. Após 20 dias foram coletadas amostras de folhas, congeladas em nitrogênio líquido e realizada extração protéica com 0,5 g de folhas adicionando - se 2,0 mL de tampão de extração constituído de 1,924 µL de tampão fosfato de potássio 0,1 M pH 7, 20 µL de EDTA 0,1 M, 8 µL de DTT 0,5 M, 16 µL de PMSF 0,1 M e 40 mg de PVPP. O extrato foi centrifugado a 14000 g, por 20 minutos a 4°C. O sobrenadante foi utilizado para a determinação das atividades das enzimas: peroxidase do ascorbato (APX), catalase (CAT) e dismutase do superóxido (SOD). A análise da atividade da SOD foi realizada segundo Giannopolitis & Ries (1977), a atividade da APX segundo de Nakano & Asada (1981) e a CAT segundo Madhusudhan *et al.*, (2003).

As análises anatômicas foram realizadas nas plantas filhas após 20 dias sendo fixadas em F.A.A._{70%} (Kraus & Arduim, 1997). As secções foliares foram realizadas na região mediana utilizando - se micrótomo tipo LPC,

foram clarificadas com hipoclorito de sódio 50%, lavadas em água destilada, coradas com Safrablau e montadas em lâminas com glicerina 50% (Kraus & Arduim, 1997). As lâminas foram fotografadas em microscópio Olympus modelo BX 60 acoplado à câmera digital Canon A630, as fotomicrografias foram avaliadas no software para análise de imagens UTHSCSA - ImageTool. O delineamento foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos e cinco repetições, os dados foram submetidos à análise de variância e ao teste de Scott - Knott para $P_i 0,05$ no software Sisvar.

RESULTADOS

A atividade da CAT nas folhas de *E. crassipes* aumentou em 141,60% ($P=0,014$) na concentração de 0,40 mg L⁻¹, seguido de uma redução de 26,73% na concentração de 0,80 mg L⁻¹ e de 44,36% na concentração de 1,60 mg L⁻¹ ($P=0,014$). A atividade da APX nas folhas de *E. crassipes* aumentou em 118,0% na concentração de 0,40 mg L⁻¹, estabilizando até a concentração de 3,2 mg L⁻¹ quando a atividade dessa enzima volta a aumentar em 23,37% ($P= 0,0273$). A atividade da SOD aumentou em 13,65% na concentração de 0,80 mg L⁻¹ de Cd ($P= 0,0017$), oscilando nas concentrações superiores sem se modificar significati

A atividade da CAT nas folhas de *E. crassipes* aumentou em 141,60% ($P=0,014$) na concentração de 0,40 mg L⁻¹, seguido de uma redução de 26,73% na concentração de 0,80 mg L⁻¹ e de 44,36% na concentração de 1,60 mg L⁻¹ ($P=0,014$). A atividade da APX nas folhas de *E. crassipes* aumentou em 118,0% na concentração de 0,40 mg L⁻¹, estabilizando até a concentração de 3,2 mg L⁻¹ quando a atividade dessa enzima volta a aumentar em 23,37% ($P= 0,0273$). A atividade da SOD aumentou em 13,65% na concentração de 0,80 mg L⁻¹ de Cd ($P= 0,0017$), oscilando nas concentrações superiores sem se modificar significativamente. A espessura do mesofilo aumentou em todos os tratamentos contendo Cd em relação ao controle (de 320,35 para 815,81 μm), não se modificando entre das diferentes concentrações desse elemento ($P_i 0,0001$). O parênquima paliçádico espessou em 138,20% (de 62,88 para 149,78 μm) nas concentrações de 0,40 e 0,80 mg L⁻¹ aumentando ainda 26,59% na concentração de 1,6 mg L⁻¹ (de 149,78 para 181,01 μm) caindo novamente (de 181,01 para 141,6 μm) na concentração de 3,2 mg L⁻¹ ($P_i 0,0001$). A espessura do parênquima esponjoso aumentou em 168,98% em todos os tratamentos contendo Cd (de 260,30 para 700,16 μm), não diferindo entre as diferentes concentrações ($P_i 0,0001$). A relação parênquima paliçádico/parênquima esponjoso não se modificou entre os diferentes tratamentos ($P= 0,42$). A distância entre os feixes vasculares aumentou em 53,60% (de 104,0 para 159,8 μm) nas concentrações

de 0,80 e 1,6 mg L⁻¹ de Cd, caindo novamente (de 159,8 para 124,4 μm) na concentração de 3,2 mg L⁻¹ ($P_i 0,0001$). A proporção de aerênquima na folha não se modificou nos tratamentos contendo Cd ($P= 0,34$). Na presença de Cd aumenta - se a produção de espécies reativas de oxigênio que prejudicando as atividades fisiológicas (Schüzendübel *et al.*, 001). A ativação do sistema antioxidante nas folhas do aguapé pode ter permitido a manutenção da estrutura de membranas das células e organelas permitindo essa espécie tolerar tais condições. A manutenção na proporção de aerênquima foliar é importante pois pode conservar o espaço destinado à retenção de gases essenciais na fotossíntese e respiração nas folhas. Esse resultado demonstra uma característica de tolerância de *E. crassipes* ao Cd pois em outras macrófitas aquáticas Souza *et al.*, (2009), verificaram a redução no aerênquima foliar na presença de Cd. O aumento na espessura do parênquima paliçádico espessou em 138,20% (de 62,88 para 149,78 μm) nas concentrações de 0,40 e 0,80 mg L⁻¹ aumentando ainda 26,59% na concentração de 1,6 mg L⁻¹ (de 149,78 para 181,01 μm) caindo novamente (de 181,01 para 141,6 μm) na concentração de 3,2 mg L⁻¹ ($P_i 0,0001$). A espessura do parênquima esponjoso aumentou em 168,98% em todos os tratamentos contendo Cd (de 260,30 para 700,16 μm), não diferindo entre as diferentes concentrações ($P_i 0,0001$). A relação parênquima paliçádico/parênquima esponjoso não se modificou entre os diferentes tratamentos ($P= 0,42$). A distância entre os feixes vasculares aumentou em 53,60% (de 104,0 para 159,8 μm) nas concentrações de 0,80 e 1,6 mg L⁻¹ de Cd, caindo novamente (de 159,8 para 124,4 μm) na concentração de 3,2 mg L⁻¹ ($P_i 0,0001$). A proporção de aerênquima na folha não se modificou nos tratamentos contendo Cd ($P= 0,34$). Na presença de Cd aumenta - se a produção de espécies reativas de oxigênio que prejudicando as atividades fisiológicas (Schüzendübel *et al.*, 001). A ativação do sistema antioxidante nas folhas do aguapé pode ter permitido a manutenção da estrutura de membranas das células e organelas permitindo essa espécie tolerar tais condições. A manutenção na proporção de aerênquima foliar é importante pois pode conservar o espaço destinado à retenção de gases essenciais na fotossíntese e respiração nas folhas. Esse resultado demonstra uma característica de tolerância de *E. crassipes* ao Cd pois em outras macrófitas aquáticas Souza *et al.*, (2009), verificaram a redução no aerênquima foliar na presença de Cd. O aumento na espessura do parênquima paliçádico

pode permitir um melhor aproveitamento da radiação incidente na fotossíntese.

CONCLUSÃO

O Cd na solução estimula o sistema antioxidante no aguapé e não prejudica a estrutura anatômica atribuindo tolerância a essa espécie para esse elemento.

AGRADECIMENTOS

Agradecimento especial ao CNPq e a FAPEMIG pelo financiamento do projeto.

REFERÊNCIAS

BENAVIDES, M. P.; GALLEGOS, S. M.; TOMARO, M. L. 2002. Cadmium toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 17: 21 - 34.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. 1977. Superoxide dismutases: I. occurrence in higher plants. *Plant Physiology* 59: 309 - 314.

GRATÃO, P. L.; PRASAD, M. N. V.; CARDOSO, P. F.; LEA, P. J.; AZEVEDO, R. A. 2005. Phytoremediation: green technology for the clean up of toxic metals in environment. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 17: 53 - 64.

KRAUS, J. E.; & ARDUIM, M. 1997. Manual básico de métodos em morfologia vegetal. Seropédica: EDUR, 221 p.

MADHUSUDHAN, R.; ISHIKAWA, T.; SAWA, Y.; SHIGEOKA, S.; SHIBATA, H. 2003. Characterization of an ascorbate peroxidase in plastids of tobacco BY-2 cells. *Physiologia Plantarum* 117: 550 - 557.

NAKANO, Y.; ASADA, K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplast. *Plant & Cell Physiology* 22: 867 - 880.

OLIVEIRA, J. A.; CAMBRAIA, J.; CANO, M. A. O.; JORDÃO, C. P. 2001. Absorção e acúmulo de cádmio e seus efeitos sobre o crescimento relativo de plantas de aguapé e salvinia. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 13: 329 - 341.

SCHÜTZENDÜBEL, A.; SCHWANZ, P.; TEICHMANN, T.; GROSS, K.; LANGENFELD - HEYSER, R.; GODBOLD, D. L.; POLLE, A. 2001. Cadmium-induced changes in antioxidative systems, hydrogen peroxide content, and differentiation in scots pine roots. *Plant Physiology* 127: 887 - 898.

SOUZA, V. L.; SILVA, D. C.; SANTANA, K. B.; MIELKE, M. S.; ALMEIDA, A. F.; MANGABEIRA, P. A.; ROCHA, E. A. 2009. Efeito do cádmio na anatomia e na fotossíntese de duas macrófitas aquáticas. *Acta Botânica Brasílica* 23: 343 - 354.