

Categoria
Trabalho Acadêmico / Artigo Completo

EFEITO TÓXICO DO COBRE SOBRE O CRESCIMENTO DA MACRÓFITA AQUÁTICA *LEMNA MINOR*

Maíra Alcântara Proença¹

Laira Lúcia Damasceno de Oliveira²

Odete Rocha³

RESUMO: O crescente desenvolvimento humano sem a preocupação ambiental tem ocasionado grandes prejuízos para o funcionamento dos ecossistemas naturais. Atualmente a conscientização para os problemas advindos da degradação ambiental estimula a realização de pesquisas para a avaliação dos problemas já existentes, e prevenção de maiores impactos. O metal cobre é naturalmente encontrado em baixas quantidades nos ecossistemas aquáticos fazendo parte do ciclo de vida dos organismos, porém quando em altas concentrações pode se tornar tóxico e prejudicial. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito do cobre no crescimento da macrófita *Lemna minor* tendo em vista que ele é frequentemente utilizado para o controle de florescimentos indesejáveis de algas. Para isso foram realizados testes de toxicidade aguda. As macrófitas foram cultivadas em soluções nutritivas Hoagland (controle), e os tratamentos consistiram em quatro concentrações contaminadas com o cobre: 0,01 mg.L⁻¹; 0,1 mg.L⁻¹; 1 mg.L⁻¹ e 10 mg.L⁻¹ com quatro repetições cada. O experimento teve a duração de 7 dias durante os quais as macrófitas foram mantidas em incubadora com fotoperíodo de 12h luz / 12h escuro: e temperatura constante de 25,0 ± 1,0 °C. Como respostas foram utilizados os seguintes parâmetros: crescimento populacional, área foliar, comprimento da raiz e peso fresco. Os resultados evidenciaram que nas concentrações de 0,01 mg.L⁻¹; 0,1 mg.L⁻¹ e 1,0 mg.L⁻¹ de cobre ocorreu um efeito estimulador para o

¹ Graduando em Ciências Biológicas, UFSCar - São Carlos. maira_proenca@hotmail.com

² Bióloga, Doutoranda na Escola de Engenharia de São Carlos – USP. lairaoliver@yahoo.com.br

³ Bióloga, Profa Dra Odete Rocha, Universidade Federal de São Carlos, UFSCar. doro@ufscar.br

crescimento e desenvolvimento da *Lemna minor* em comparação ao controle, enquanto na concentração de 10 mg.L⁻¹ observou-se um efeito inibitório. O cobre apresentou ser prejudicial somente quando em altas quantidades, porém mais testes deverão ser feitos para determinação da concentração que se torna tóxico e prejudicial ao ambiente.

1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, com o crescente desenvolvimento humano sem a devida preocupação com as alterações ambientais houve um aumento significativo da degradação do ambiente, com acelerada deterioração dos recursos hídricos. A qualidade dos recursos hídricos é um problema importante atualmente por ser um recurso essencial e finito (Moraes & Jordão, 2002). Em decorrência disso houve um considerável aumento no número de pesquisas voltadas para o tratamento e a melhoria da qualidade dos ecossistemas aquáticos, visando reduzir e evitar os impactos ambientais oriundos de atividades antrópicas (Corby, 2010).

Os metais são comumente encontrados nos corpos de água em baixas quantidades, não sendo prejudicial ao ambiente. Os metais essenciais (sódio, potássio, cobre, ferro e zinco) estão presentes nos ciclos de vida dos animais e vegetais por fazerem parte da manutenção fisiológica, porém em baixa quantidade podendo se tornar tóxicos e prejudiciais quando encontrados em maiores quantidades. Os metais que não fazem parte dos ciclos vitais são conhecidos como potencialmente tóxicos (chumbo, mercúrio, cádmio e arsênio) sendo considerados os mais preocupantes poluentes aquáticos (Rosa et al., 2012)

As principais fontes responsáveis pelo acúmulo de metais pesados nos recursos hídricos são de origem antrópica, como o despejo inadequado de efluentes urbanos e industriais, atividades agrícolas e mineração. A presença de metais em alta concentração nos ecossistemas aquáticos é preocupante por estes não se degradarem e se tornarem fonte de toxicidade para biota local. Os metais podem causar efeitos a curto prazo afetando as atividades dos organismos e a longo prazo pela biocumulação (Filho, 2001).

O metal cobre é um dos metais mais abundantes nos ecossistemas aquáticos, sendo um elemento essencial para o crescimento das plantas e importantes como co-fator de enzimas ou constituintes de algumas proteínas. Porém quando encontrados em

maiores quantidades podem ser prejudiciais, podendo provocar deficiência de ferro e peroxidação lipídios, e em casos mais extremos, a destruição de membranas (Pietra et al., 2008)

Um problema atual é a eutrofização acelerada que ocorre nos reservatórios, e crescimento descontrolado das cianobactérias e organismos patógenos como algumas bactérias. O sulfato de cobre tem sido utilizado como algicida, que é um fator agravante para o aumento de cobre nos recursos hídricos (Vaz, 2011). Sendo assim, pesquisas toxicológicas que visam e estudar o efeito desse metal em organismos vivos são relevantes e necessárias.

As análises ecotoxicológicas são utilizadas como ferramenta no monitoramento ambiental, permitindo estudar a ação dos poluentes ambientais provenientes de efluentes urbanos e industriais, atividades agrícolas, mineração, incluindo a biota aquática. Os testes toxicológicos são geralmente realizados com os organismos indicadores do ambiente com significativa representação ecológica (Magalhães e Filho, 2008).

As macrófitas aquáticas possuem grande importância ecológica nas comunidades e sistemas de água doce tropicais, atuando no armazenamento nutrientes e no fluxo de energia do ambiente representando a base das teias alimentares em cadeias tróficas de herbivoria direta bem como em cadeias de detritivoria (Thomaz, 2002). Espécies de macrófitas apresentam diversas vantagens ao serem utilizadas como bioindicadoras da qualidade de água em ambientes lênticos e lóticos (Silva, 2011).

A macrófita *Lemna minor* é uma espécie representativa de corpos de água lênticos, com rápido crescimento e vem sendo bastante utilizada no monitoramento dos metais em recursos hídricos, e também de outros tipos de poluentes. Possuem características favoráveis para seu uso em testes ecotoxicológicos, como: pequeno tamanho, estrutura simples e rápido crescimento e propagação vegetativa (Cassidy, 2006).

O objetivo do presente trabalho é avaliar o efeito do metal cobre no crescimento da macrófita *Lemna minor* utilizando quatro parâmetros diferentes, que são: crescimento populacional, área foliar, comprimento da raiz e peso fresco.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Obtenção do inóculo e Cultivo da Macrófita *Lemna minor*.

A macrófita *Lemna minor* foi coletada, em ecossistemas lênticos no município de São Carlos, SP, pela técnica dos quadrados. Foram previamente selecionadas e lavadas com água corrente filtrada, e posteriormente foram colocadas em recipientes e mantidas no laboratório do Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva da UFSCar.

Os recipientes foram preenchidos com a solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1950) modificada (Melo, 2006) descritos nas tabelas 1 e 2, com pH 6,0 e mantidas em incubadoras a 25°C com fotoperíodo de 12/12 horas.

Tabela 1: Composição e concentração dos **macro-nutrientes** em quatro soluções estoque (g/L) para preparação das soluções de macronutrientes do meio nutritivo Hoagland a serem utilizadas nos experimentos de crescimento das macrófitas (MELO, 2006)

Soluções estoque	Reagentes	Solução estoque (g/L)	Solução nutritiva (mL a pipetar por L)
1	Nitrato de cálcio $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	236,2	5
2	Nitrato de potássio KNO_3	101,1	5
3	Dihidrogenofosfato de potássico KH_2PO_4	136,1	1
4	Sulfato de magnésio $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	246,5	2

Tabela 2: Composição e concentração dos micro-nutrientes da solução estoque (g/L) para o meio nutritivo Hoagland a serem utilizadas nos experimentos de crescimento das macrófitas (Melo, 2006).

Reagentes	Solução stock (g/L)	Solução nutritiva (mL a pipetar por L)
Ácido bórico H_3BO_3	2,86	1
Cloreto de manganês $MnCl_2 \cdot 4H_2O$	1,81	1
Sulfato de zinco $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	0,22	1
Sulfato de cobre $CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0,08	1
Molibdato de amônio $(NH_4)_6Mo_7O_{27} \cdot 7H_2O$	0,02	1
Fe-EDTA*	6,08	1

*Foi feita separado dos outros micronutrientes, em que foram pesados 6,08 g de Sulfato de ferro em 500 mL de água, e 14,89 g de EDTA sódico em 400 mL de água quente (80°). E após a solução de EDTA esfriar, as duas soluções foram misturadas completadas para 1 L, ficando borbulhando ar por 12 horas no escuro.

2.2 Testes preliminares de toxicidade aguda com o metal cobre utilizando a macrófita *Lemna minor*

Para realização dos testes foram preparadas soluções nutritivas do meio Hoagland & Arnon (1950) modificada (Melo, 2006). Foi preparada uma situação controle em que só havia a solução nutritiva Hoagland, e outras quatro situações que foram colocadas diferentes concentrações do metal cobre. As concentrações utilizadas do metal foram: $0,01 \text{ mg.L}^{-1}$; $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$; 1 mg.L^{-1} e 10 mg.L^{-1} , que foram completados para 100 mL de solução nutritiva, estabelecendo-se para cada tratamento 4 repetições.

Para cada situação foram escolhidos indivíduos da macrófita *Lemna minor* que foram aclimatadas e mantidas no meio nutritivo por pelo menos 7 dias. Em cada tratamento foram colocadas 4 colônias, sendo que só foram escolhidas colônias que tinham 2 ou 3 frondes. O critério de escolha das frondes foi pela aparência saudável e similaridade do tamanho. O experimento teve duração de 7 dias sem nenhuma renovação do meio e foram mantidos em incubadora com temperatura controlada de 25°C e fotoperíodo de 12/12 horas. Durante o experimento foi acompanhado o crescimento

populacional da macrófita com contagens diárias do número de frondes e colônias (Cleuvers, 2003 & Abe, 2012)

Após os 7 dias foi feita medição do comprimento e largura e tamanho da raiz com uma lupa milimetrada e quantificação da biomassa fresca (peso fresco) com balança analítica de precisão de 10 frondes de cada repetição dos diferentes tratamento. Após as medições foram calculadas a área foliar das frondes utilizando a fórmula matemática para o cálculo da área de uma elipse.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 3 são apresentados os valores médios do crescimento populacional pela contabilização do número total de frondes obtidos nos diferentes tratamentos, durante 7 dias.

Tabela 3: Crescimento populacional médio da macrófita *Lemna minor* nos diferentes tratamentos mantidas por 7 dias em incubadora a 25°C com fotoperíodo 12/12 horas.

Tratamentos	Média do número de frondes (horas)							
	Inicial	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h	144 h	168 h
Controle	9	9	9,75	10,75	12,5	14,25	15,75	16,75
0,01 mg.L ⁻¹	9	9,25	11	13,5	15,75	15,75	17,5	18,75
0,1 mg.L ⁻¹	9	9	12	13,5	16	16,5	18,75	19,75
1 mg.L ⁻¹	9	9	12,25	13,75	16	16,75	20	23,5
10 mg.L ⁻¹	9	8,5	7,75	9,5	11,25	10,25	10,75	10,75

Na Figura 1, estão representadas a média e o respectivo desvio padrão do tamanho populacional por tratamento, analisado pela contagem do número de frondes durante os 7 dias consecutivos. O tratamento que resultou maior número de frondes foi a concentração de 1 mg.L⁻¹ com uma média final de 23,5 indivíduos, seguido dos tratamento com concentrações de 0,01 mg.L⁻¹ e 0,1 mg.L⁻¹ que apresentaram médias semelhantes, com 18,75 e 19,75 respectivamente, e depois o controle apresentando uma média de

16,75 frondes. O que resultou em menor crescimento foi o tratamento com 10 mg.L⁻¹, com tamanho populacional médio de 10,75 frondes.

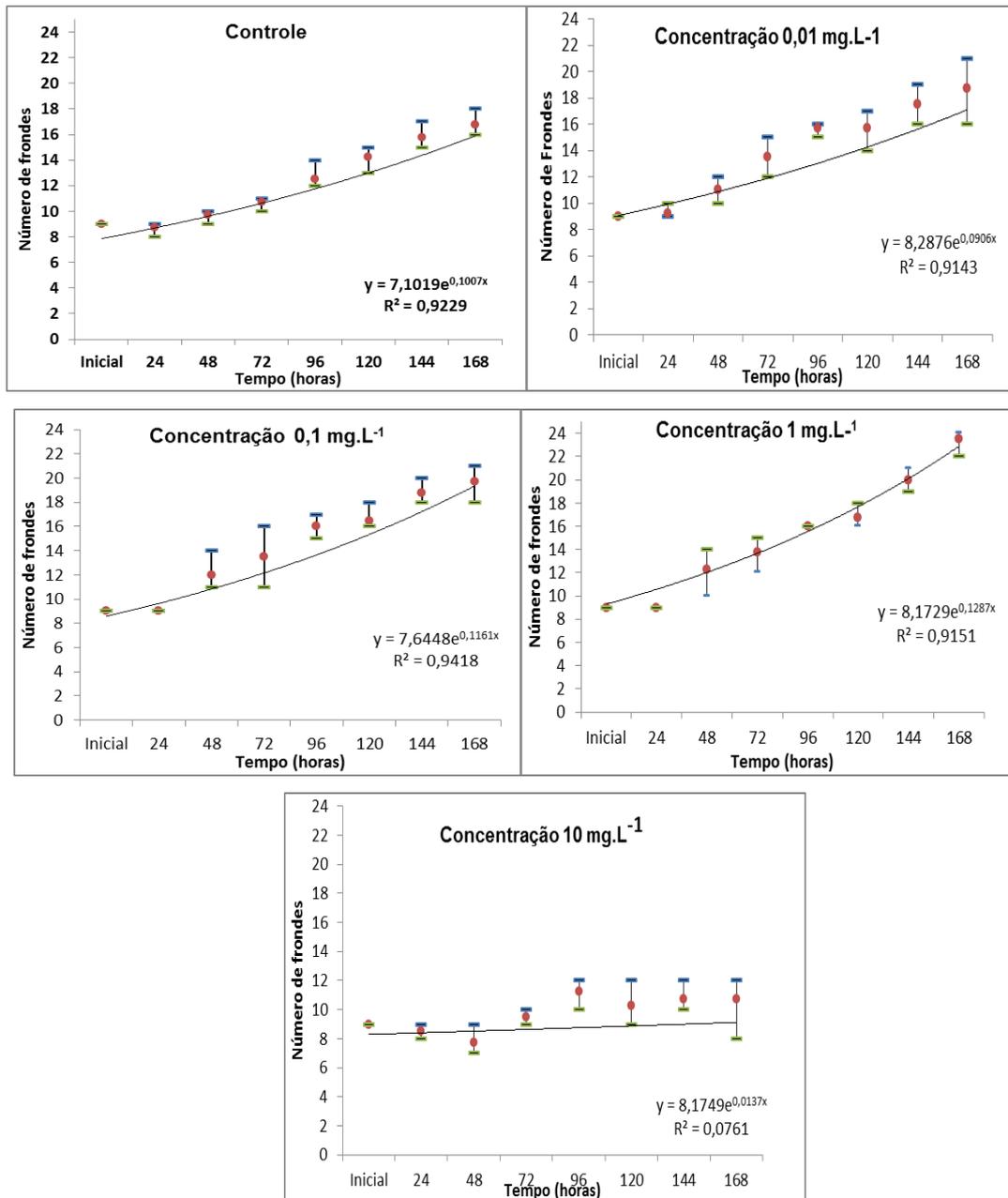


Figura 1: Valores Médios e desvio padrão do tamanho da população expresso pelo número de frondes no período de 7 dias para a macrófita *Lemna minor* expostas a diferentes concentrações do metal cobre, mantidas em incubadora a 25°C com fotoperíodo 12/12 horas.

Na Figura 2 são comparados em porcentagem, o crescimento da população controle, mantida apenas em solução nutritiva em relação às diferentes concentrações do metal cobre. O crescimento do controle foi utilizado como referencial considerando 100% o incremento nele ocorrido. Nas concentrações em que o número de frondes ultrapassou aquele do controle considerou-se que ocorreu uma estimulação do crescimento da macrófita *L. minor*. Por outro lado, quando houve menor número de frondes do que no controle considerou-se a ocorrência de inibição no crescimento.

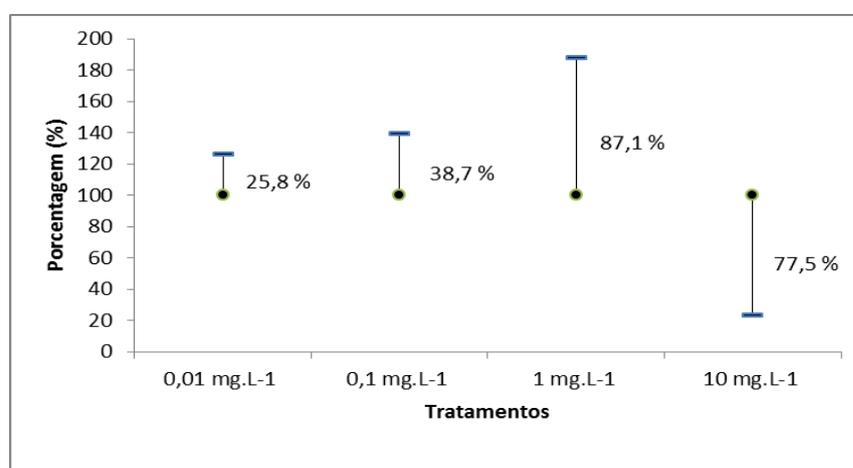


Figura 2: Análise da estimulação ou inibição em porcentagem do crescimento populacional de *Lemna minor*, utilizando a comparação das diferentes concentrações de cobre com o controle (meio Hoagland),

Os tratamentos 0,01 mg.L⁻¹, 0,1 mg.L⁻¹ e 1 mg.L⁻¹, resultaram em estimulação do crescimento da população de *Lemna minor* na presença do metal cobre, sendo que a concentração para a qual foi obtida uma maior estimulação foi a concentração de 1 mg.L⁻¹ com crescimento 87,1% maior do que a situação controle, seguida pelo tratamento com 0,1 mg.L⁻¹ com crescimento 38,7% maior e 0,01 mg.L⁻¹ com 25,8% de estimulação. Observou-se que na concentração de 10 mg.L⁻¹, o metal cobre foi inibidor, com um crescimento 77,5% menor do que no controle.

Na Tabela 4 são apresentados os valores médios do peso fresco da macrófita *Lemna minor*, para os diferentes tratamentos. Observa-se que os tratamentos referentes às concentrações de 0,01 ; 0,1 e 1 mg.L⁻¹ de cobre resultaram em valores de peso fresco médio similares entre si, 0,004 g; 0,0039 g, 0,0042g respectivamente, e maiores do que o

controle, que foi de 0,0029 g. O menor peso fresco foi obtido na concentração de 10 mg.L⁻¹, cujo peso fresco foi de apenas 0,0011 g.

Tabela 4: Peso fresco médio em gramas da macrófita *Lemna minor* exposta a diferentes concentrações de cobre por 7 dias em condições controladas de 25°C e fotoperíodo 12/12 horas.

Réplicas	Controle (Hoagland)	0,01 mg.L ⁻¹	0,1 mg.L ⁻¹	1 mg.L ⁻¹	10 mg.L ⁻¹
1	0,0026	0,0042	0,0049	0,0046	0,0012
2	0,0035	0,0035	0,0039	0,0033	0,001
3	0,0025	0,0041	0,0034	0,0046	0,0013
4	0,0032	0,0042	0,0035	0,0044	0,0009
Média	0,0029	0,004	0,0039	0,0042	0,0011
Desvio Padrão	0,000415	0,000292	0,000593	0,00054	0,000158

A tabela 5 apresenta os valores da área foliar de *Lemna minor* para os tratamentos experimentais. O menor valor de área foliar ocorreu no tratamento com concentração de cobre de 10 mg.L⁻¹ com uma área de 2,63 mm². Nos demais tratamentos foram registrados valores de área similares. Resultados semelhantes foram obtidos para a variável tamanho das raízes (Tabela 6), em que o menor valor foi obtido na maior concentração testada, de 10 mg.L⁻¹ com 1,55 mm, isso porque a maioria das folhas desse tratamento estavam esbranquiçadas e com raiz ausente. Na situação controle registrou-se o maior tamanho da raiz, com 5,92 mm² enquanto nas concentrações de 0,01 mg.L⁻¹; 0,1 mg.L⁻¹ e 1 mg.L⁻¹ ocorreram tamanhos médios de raiz similares.

Tabela 5: Área foliar média da macrófita *Lemna minor* (em mm²) nos diferentes tratamentos e repetições mantidos por 7 dias em incubadora a 25°C com fotoperíodo 12/12 horas.

	Controle (Hoagland)	0,01 mg.L ⁻¹	0,1 mg.L ⁻¹	1 mg.L ⁻¹	10 mg.L ⁻¹
1	4,39	4,97	5,12	4,90	3,08
2	4,22	5,04	4,52	4,28	3,02
3	4,46	4,94	4,47	5,08	2,42
4	4,05	5,00	5,01	5,03	1,99
Média	4,28	4,98	4,78	4,82	2,631
Desvio padrão	0,158	0,0342	0,285	0,319	0,446

Tabela 6: Tamanhos médios das raízes da macrófita *Lemna minor* (em mm) nos diferentes tratamentos e repetições, mantidos por 7 dias em incubadora a 25°C com fotoperíodo 12/12 horas.

Tamanho raiz	Controle	0,01	0,1	1	10
1	6,32	4,54	5,12	5,24	2
2	5,76	4,58	4,08	3,98	1,95
3	5,86	4,28	3,92	4,62	0
4	5,76	4,44	3,74	4,44	2,25
	5,92	4,46	4,21	4,57	1,55
	0,231	0,115	0,536	0,451	0,902

O quatro parâmetros utilizados (crescimento populacional, área foliar, peso fresco e crescimento da raiz) para avaliar o efeito da toxicidade do metal cobre para a macrófita *Lemna minor*, evidenciaram efeitos prejudiciais sobre o crescimento da macrófita apenas na concentração mais elevada de 10 mg.L⁻¹ de cobre. Em relação ao crescimento populacional os indivíduos expostos à concentração 1 mg.L⁻¹ de cobre, foram estimulados, apresentando maiores taxas de crescimento comparados aos outros tratamentos. Houve uma similaridade nos resultados das análises dos tamanhos das raízes, peso fresco e área foliar nas concentrações de cobre 0,01 mg.L⁻¹; 0,1 mg.L⁻¹ e 1 mg.L⁻¹, porém no caso das áreas foliares e peso fresco notou-se maiores valores médios nos tratamentos contaminados com o cobre do que no controle. No entanto, para a variável tamanho das raízes, os maiores valores médios de comprimento ocorreram no controle. Em estudos feitos por Oliveira (2011) e Megateli et al. (2009) também foi constatado que em baixas concentrações o metal cobre não afeta o crescimento das macrófitas do gênero *Lemna*.

Segundo Filho (2001) e Cassidy (2010) o metal cobre é um constituinte natural e importante dos recursos hídricos, que quando em baixa quantidade auxilia em alguns processos fisiológicos dos organismos aquáticos animais e vegetais. Portanto, as menores concentrações utilizadas do cobre foram um fator estimulante para o crescimento e desenvolvimento dos indivíduos de *L. minor*, contudo em elevada concentração o metal se tornou tóxico e atuou inibindo o crescimento e acarretando a clorose dos indivíduos.

4. CONCLUSÃO

O metal cobre faz parte naturalmente dos recursos hídricos e exerce uma importante ação fisiológica em organismos aquáticos, tanto vegetais como animais. Com os resultados encontrados nesse trabalho, demonstrou-se que o cobre não é prejudicial quando encontrados em baixas e ideais quantidades, podendo até auxiliar no desenvolvimento porém em altas concentrações ele se torna tóxico acarretando em prejuízos como inibição do crescimento. Entretanto, os testes realizados toxicológicos realizados no presente trabalho foram preliminares, devendo-se assim serem realizados novos testes para confirmação e determinação da concentração limiar em que o metal cobre se torna prejudicial.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABE, F. R. **Avaliação ecotoxicológica e risco ambiental dos inseticidas utilizados no controle da larva de *Aedes aegypti* para *Daphnia magna*, *Lemna minor* e Peixes.** 2012. Dissertação (Mestrado em Aquicultura e Biologia dos organismos aquáticos) – UNESP – CAUNESP, Jaboticabal, 2012. 144 p.

CASSIDY, J. S. **Avaliação da qualidade da água do rio Cértima através de ensaios cotoxicológicos.** 2010. Dissertação (Mestre em Engenharia do Ambiente) - Universidade de Aveiro, Aveiro, 2010. 90 p.

CLEUVERS, M. Aquatic ecotoxicity of pharmaceuticals including the assessment of combination effects. **Toxicology Letters.** n 142, 2003. p. 185- 194.

CORBI, J. J. ; STRIXINO, S. T; SANTOS, A. ; DEL GRANDE, M. Diagnóstico ambiental de metais organoclorados em córregos adjacentes áreas de cultivo de Cana-de-açúcar (Estado de São Paulo, Brasil). **Quim Nova**, Vol. 29, No. 1, 2006, 61-65 p.

FILHO, E.A. C. **Avaliação preliminar dos níqueis de cádmio, cromo, cobre, chumbo e zinco em peixes do sistema estuarino da Baía de Vitória – ES.** Monografia (especialização de Recursos Naturais). Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória. 2001. 56 p.

MAGALHÃES, P. D. ; FILHO, A. S. F. A ecotoxicologia como ferramenta do biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. **Oecol. Bras.**, ed. 12 (3), 2008. p. 355-381.



MEGATELI, S. SEMSARI, S. ; COUDERCHET, M. Toxicity and removal of heavy metals (cadmium, copper, and zinc) by *Lemna gibba*. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 72 , 2009. P. 1774–1780.

MORAES, D. S. L. ; JORDÃO, B. Q. Degradação de recursos hídricos e seus efeitos sobre a saúde humana. **Rev Saúde Pública**, ed. 36(3) 2002. p. 370-4

MELO, F. R. Q. **Produção de nastúrcio em cultivo hidropônico com diferentes soluções nutritivas**. 2006. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006. 68f.

OLIVEIRA, R. M. ; PAGIORO, T. A.; MARTINS, L. R. R. Utilização de Lemnas em testes ecotoxicológicos na determinação de CL50 de Cobre e Zinco. In: Seminário de Iniciação científica e tecnológica Sicite UTFPR, Curitiba, 2011.

RADIC, S. ; BABIC, M. SKOBIC, D. ; ROJE, V. PEVALEK-KOZLINA, B. Ecotoxicological effects of aluminum and zinc on growth and antioxidants in *Lemna minor* L. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 73, 2010. P. 336–342.

ROSA, André Henrique; FRACETO, Leonardo Fernandes; CARLOS, Viviane Moschini. **Meio ambiente e sustentabilidade**. 1ª Edição. Porto Alegre: Editora Bookman, 2012.

SILVA, S. S. L. Caracterização ecológica e estrutural de macrófitas em reservatórios no estado de Pernambuco. 2011. 108 f. Tese (Doutorado em Botânica) – Universidade Rural do Pernambuco, Recife, 2011.

THOMAZ, S.M. Fatores Ecológicos Associados à Colonização e ao Desenvolvimento de Macrófitas Aquáticas e Desafios de Manejo. *Planta Daninha*, Viçosa-MG, v.20, p.21-33, 2002. Edição Especial.

PIEDRA, G. H.; CARRERA, V. R. ; ACOSTA, O. C. **Estrés de pistia stratiotes por exposición a cobre**. In Semana de Divulgación y Video Científico, 2008

VAZ, C. L. O. Efeitos do cobre no sargo (*Diplodus sargus*, Linnaeus 1758): Implicações quer a nível fisiológico, quer de crescimento. Dissertação (Mestrado em Engenharia Zootécnica) – Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2011. 119 p.