



ESTEFÂNIA SANTOS RIBEIRO

ANATOMIA, NUTRIÇÃO E FISIOLOGIA DE
***Echinodorus grandiflorus* (Cham. & Schldl.)**
***Micheli* ssp. *grandiflorus* SUBMETIDA AO**
CHUMBO

LAVRAS - MG

2014

ESTEFÂNIA SANTOS RIBEIRO

**ANATOMIA, NUTRIÇÃO E FISIOLOGIA DE *Echinodorus grandiflorus*
(Cham. & Schldl.) Micheli ssp. *grandiflorus* SUBMETIDA AO CHUMBO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Botânica Aplicada, área de concentração em Botânica, para a obtenção do título de Mestre.

Orientador

Dr. Fabricio José Pereira

Coorientador

Dr. Evaristo Mauro de Castro

LAVRAS-MG

2014

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Coordenadoria de Produtos e
Serviços da Biblioteca Universitária da UFLA**

Ribeiro, Estefânia Santos.

Anatomia, nutrição e fisiologia de *Echinodorus grandiflorus*
(Cham. & Schltl.) Micheli ssp. *grandiflorus* submetida ao Chumbo/
Estefânia Santos Ribeiro. – Lavras : UFLA, 2014.

78p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2014.

Orientador: Fabricio José Pereira.

Bibliografia.

1. Chapéu-de-couro. 2. Fitorremediação. 3. Metais pesados. 4.
Ecofisiologia vegetal. 5. Anatomia vegetal. I. Universidade Federal
de Lavras. II. Título.

CDD – 584.721

ESTEFÂNIA SANTOS RIBEIRO

**ANATOMIA, NUTRIÇÃO E FISIOLOGIA DE *Echinodorus grandiflorus*
(Cham. & Schldl.) Micheli ssp. *grandiflorus* SUBMETIDA AO CHUMBO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Botânica Aplicada, área de concentração em Botânica, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 14 de Março de 2014.

Dr. Thiago Corrêa de Souza UNIFAL - MG

Dra. Cynthia de Oliveira UFLA

Dr. Fabricio José Pereira
Orientador

LAVRAS - MG

2014

A Deus, por ter me dado forças para vencer as adversidades até aqui...

Aos meus pais, que sempre me apoiaram, compreenderam, incentivaram e acreditaram em mim.

Ao meu marido Haroldo, sempre um exemplo de fé, força e esperança.

Às amigas (irmãs) Camila e Luciana, que na verdade foram meu porto seguro quando mais precisei....

Aos meus irmãos Miller e Mirla, pelos conselhos, orações para que eu pudesse chegar até aqui.

Ao meu orientador, Fabricio José Pereira.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Programa de Pós-graduação em Botânica Aplicada, pela realização do Mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de estudos.

Ao professor Dr. Fabricio José Pereira, pelos ensinamentos, amizade, paciência e compreensão que contribuíram para meu crescimento profissional e pessoal, ao qual devo todo o meu respeito e admiração.

Ao Dr. Evaristo Mauro de Castro, pelo incentivo e todo apoio na coorientação.

De uma forma muito especial agradeço aos amigos Vinícius Henrique Gomes Zuppa de Andrade e Gabriel Resende de Baroni, pelo apoio nas análises anatômicas.

Ao técnico Ítalo Antônio Fernandes, pelo apoio no Laboratório de Anatomia Vegetal.

Aos amigos do programa Cíntia, Katiúscia, Márcio, Felipe, Luiz e Marinês, pelos ensinamentos e apoio na condução das atividades.

À Dr. Cláudia Petean Bove do Laboratório de Plantas Aquáticas do Departamento de Botânica do Museu Nacional da Universidade Federal do Rio de Janeiro, pela identificação da espécie, que foi de extrema importância para realização deste trabalho.

RESUMO

Objetivou-se, neste trabalho, avaliar os mecanismos anatômicos e fisiológicos relacionados à tolerância de *Echinodorus grandiflorus*, quando exposta a diferentes concentrações de chumbo (Pb), pois a identificação desses mecanismos podem direcionar estudos para fins fitorremediadores. Foram realizados experimentos com plantas de *E. grandiflorus*, expondo-as a diferentes concentrações de chumbo [0, 0,75, 1,5, 3,0, e 9,0 μM de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$], conduzido por um período de 90 dias. Após o período experimental, foram avaliadas: as trocas gasosas foliares, características de crescimento, concentração de chumbo, macro e micro nutrientes na biomassa das plantas e as modificações na anatomia de raízes e folhas. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott, ou submetidos à regressão. A espécie *E. grandiflorus* não apresenta modificações na alocação de biomassa, produção de massa fresca e no crescimento do sistema radicular na presença de chumbo. O chumbo também não modifica a condutância estomática, taxa fotossintética, relação Ci/Ca e aumenta a transpiração das plantas. A planta acumula o chumbo até valores de $113,74 \text{ mg kg}^{-1}$ e esse elemento fica compartimentalizado, principalmente nas raízes com reduzida translocação para a parte aérea. Ocorreram modificações nas concentrações de macro e micro nutrientes mas sem restrições nutricionais e com evidente intensificação da absorção de cálcio. A anatomia da espécie não demonstra necrose ou evidências de toxicidade do chumbo. Ocorrem modificações no xilema das folhas e raízes otimizando a condução de água e nutrientes e espessamento da endoderme e do córtex radicular, que restringem o fluxo de chumbo para a parte aérea. Portanto, *E. grandiflorus* é tolerante aos efeitos do chumbo devido à manutenção do crescimento, ausência de necrose e melhorias na funcionalidade de seus tecidos radiculares e foliares, manutenção da fotossíntese e nutrição mineral, mesmo acumulando chumbo em seus tecidos.

Palavras-chave: Chapéu-de-couro. Macrófitas aquáticas. Fitorremediação. Metais pesados. Ecofisiologia vegetal. Anatomia vegetal.

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the anatomic and physiological mechanisms related to the *Echinodorus grandiflorus* tolerance when exposed to different concentrations of lead (Pb), since identifying these mechanisms may direct studies in phytoremediation. We conducted experiments with *E. grandiflorus* plants, exposing them to different concentrations of lead [0, 0.75, 1.5, 3.0, and 9.0 μM of $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$] for a period of 90 days. After the experimental period, we evaluated: leaf gas exchanges, growth characteristics, lead concentrations, macronutrient and micronutrient levels in plant biomass and the modifications in root and leaf anatomy. The data were submitted to analysis of variance and the means were compared by the Scott-Knott test, or submitted to regression analysis. The *E. grandiflorus* species did not show any modifications in biomass allocation, fresh mass production and in the root system growth under lead contamination. Lead also did not modify stomatal conductance, photosynthetic rate, Ci/Ca ratio, but increased plant transpiration. The plant accumulates up to 113.74 mg kg^{-1} of lead and this element is mainly compartmentalized in the roots with reduced translocation to the shoots. Modifications occurred in the concentrations of macronutrients and micronutrients, however, without any nutritional restrictions and with evident increase in calcium absorption. The specie's anatomy does not demonstrate necrosis or evidence of lead intoxication. Modifications also occurred in leaf and root xylem optimizing water and nutrient conduction as well as thickening of endodermis and radicular cortex, which limits the flow of lead to the shoot. Therefore, *E. grandiflorus* is tolerant to the effects of lead due to growth maintenance, absence of necrosis and improvement in the functionalities of its radicular and foliar tissues, photosynthesis maintenance and mineral nutrition, even accumulating lead in the tissues.

Keywords: Large Burhead. Water macrophytes. Phytoremediation. Heavy metals. Plant ecophysiology. Plant anatomy.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 A- Teor total de Pb em plantas de *E. grandiflorus*; B - Acúmulo e alocação de Pb nos diferentes órgãos de *E. grandiflorus* expostas a concentrações crescentes de chumbo, por um período de 90 dias; MS - massa seca; C - Interação Pb x órgão expostas a crescentes concentrações de chumbo, por um período de 90 dias. Barras equivalem ao erro padrão34
- Figura 2 Trocas gasosas foliares em plantas de *E. grandiflorus* expostas à concentrações crescentes de chumbo por um período de 90 dias; A – Taxa transpiratória, B – Taxa fotossintética, C – condutância estomática, D – Relação Ci/Ca. As médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade de erro. Barras equivalem ao erro padrão.38
- Figura 3 Teor de cálcio em órgãos vegetativos de *E. grandiflorus* expostas a diferentes concentrações de Pb. A= Ca total na planta; B= alocação do Ca nos diferentes órgãos48
- Figura 4 Secções transversais do limbo foliar de *E. grandiflorus*, sob diferentes concentrações de chumbo. A= controle (0); B= 0,75; C= 1,5; D= 3,0; E= 6,0 e F= 9,0 μM de Pb. Barras= 100 μm50
- Figura 5 Características anatômicas foliares, em secção transversal, de plantas de *E. grandiflorus*, submetida à diferentes concentrações de chumbo. EAD = epiderme face adaxial, EAB = epiderme face abaxial, PP = parênquima paliçádico, PE = parênquima esponjoso e EM = espessura do mesofilo. Barras equivalem ao erro padrão.....52

- Figura 6 Secções transversais da nervura central de *E. grandiflorus* sob diferentes concentrações de chumbo. A= controle (0); B= 0,75; C= 1,5; D= 3,0; E= 6,0 e F= 9,0 μM de Pb. Barras= 200 μm54
- Figura 7 Características quantitativas dos tecidos dos feixes vasculares da nervura central das folhas de *E. grandiflorus*, sob diferentes concentrações de chumbo. As barras equivalem ao erro padrão56
- Figura 8 Secções transversais da raiz de *E. grandiflorus*, sob diferentes concentrações de chumbo. A= controle (0); B= 0,75; C= 1,5; D= 3,0; E= 6,0 e F= 9,0 μM de Pb. Barras= 200 μm59
- Figura 9 Secções transversais do cilindro vascular de raízes de *E. grandiflorus*, sob diferentes concentrações de chumbo. A= controle (0); B= 0,75; C= 1,5; D= 3,0; E= 6,0 e F= 9,0 μM de Pb. Nota: Barras= 50 μm 60
- Figura 10 Modificações nas barreiras apoplásticas das raízes de *E. grandiflorus*, sob diferentes concentrações de chumbo. As barras equivalem ao erro padrão61
- Figura 11 Modificações na proporção de tecidos vasculares no cilindro vascular das raízes de *E. grandiflorus*, sob diferentes concentrações de chumbo. A – Proporção de Xilema, B – Proporção de Floema, C – Proporção de elemento de vaso no cilindro vascular e D- Proporção de elemento de vaso no xilema. As barras equivalem ao erro padrão.....63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Características biométricas do sistema radicular de <i>Echinodorus grandiflorus</i> , em função das diferentes concentrações de chumbo na solução nutritiva.....	36
Tabela 2	Concentrações de macronutrientes (em % massa/massa) em órgãos vegetativos de <i>E. grandiflorus</i> , cultivada em diferentes concentrações de Pb.....	40
Tabela 3	Concentrações de micronutrientes em mg Kg ⁻¹ de massa seca nos órgãos vegetativos de <i>E. grandiflorus</i> , cultivada em diferentes concentrações de Pb	41

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	12
2	REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1	Metais pesados.....	14
2.2	O Chumbo (Pb).....	14
2.3	Efeitos Fitotóxicos do Chumbo (Pb).....	16
2.4	Mecanismos de defesa contra o chumbo a nível molecular e celular apresentado pelas plantas.....	17
2.5	Modificações anatômicas causadas pelo Pb.....	19
2.6	Fitorremediação	20
2.7	Macrófitas.....	22
2.8	<i>Echinodorus grandiflorus</i> ssp. <i>grandiflorus</i> (Alismataceae)	24
3	MATERIAL E MÉTODOS	27
3.1	Local de execução.....	27
3.2	Obtenção do material vegetal	27
3.3	Planejamento experimental.....	27
3.4	Análises de crescimento.....	28
3.5	Trocas gasosas	29
3.6	Concentração de clorofila.....	29
3.7	Análise nutricional	29
3.8	Análise Anatômica	30
3.9	Análise estatística.....	31
3.10	Tratamento de resíduos contaminados	32
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
4.1	Teor de Pb em <i>Echinodorus grandiflorus</i> ssp. <i>grandiflorus</i>	33
4.2	Efeito do chumbo no crescimento de plantas de <i>E. grandiflorus</i>	35
4.3	Trocas gasosas em <i>Echinodorus grandiflorus</i> expostas ao chumbo.....	37
4.4	Nutrição de plantas <i>E. grandiflorus</i> expostas ao chumbo.....	40
4.5	Anatomia de <i>E. grandiflorus</i> exposta ao chumbo.....	49
5	CONCLUSÃO	66
	REFERÊNCIAS.....	67

1 INTRODUÇÃO

Um dos fatores que afetam o equilíbrio ambiental é a poluição causada pela deposição de metais pesados nos ecossistemas, decorrente da intensificação das atividades industriais, de mineração e do uso de pesticidas e fertilizantes (MALAVOLTA, 1994).

Segundo Glick (2003), a contaminação por metais pesados é decorrente das atividades industriais que geram resíduos e que por problemas no transporte, armazenamento e descarte desses resíduos atingem o solo, ou pelos processos naturais como a lixiviação de minério que liberam metais e também contribuem com a poluição ambiental.

O uso de plantas na remediação ambiental tem aumentado nos últimos anos. O conjunto de técnicas conhecida como fitorremediação se baseia no uso de plantas associada a sua microbiota, para imobilizar ou remover o contaminante do solo ou da água (PILON-SMITS, 2005). Essas técnicas tornaram-se alternativas emergentes para a restauração de sítios contaminados (XIAO et al., 2008).

No entanto, a fitorremediação exige a compreensão de vários fatores intrínsecos que contribuem para o seu êxito. O uso de macrófitas aquáticas em programas de fitorremediação tem sido amplamente pesquisado. Pois essas apresentam grande adaptação às condições adversas do meio e possuem crescimento rápido. São importantes para a manutenção e equilíbrio dos ecossistemas aquáticos, pois fazem parte da cadeia alimentar, além de fornecerem constantemente material para a ciclagem de nutrientes (POMPÊO; MOSCHINI-CARLOS, 2003).

As macrófitas aquáticas também possuem capacidade filtradora e despoluidora, servem de refúgio, alimento e sítio de reprodução para muitas

espécies de animais (VELÁSQUEZ, 1994). São importantes para fins econômicos, ornamentais, têxteis, alimentícios (POTT; POTT, 2000).

Espécies das famílias Brassicaceae, Eufhorbiaceae, Asteraceae, Lamiaceae e Scrophulariaceae têm sido reportadas na literatura apresentando um potencial para a fitorremediação, especificamente para áreas contaminadas por chumbo. Apesar da família Alismataceae não possuir nenhuma espécie fitorremediadora, *Sagittaria* ssp. vem sendo usada em programas de filtro biológico em programas de fitorremediação, apresentando sucesso por possuir um sistema radicular bastante ramificado (BHATIA; GOYAL, 2014).

Diante da importância da fitorremediação como técnica para descontaminação de áreas deterioradas, criou-se a necessidade de estudos que relacionem a tolerância de espécies de clima tropical, principalmente para buscar conhecer e explorar o potencial de espécies nativas, que ainda é muito pouco estudado. O entendimento das respostas fisiológicas de espécies nativas ainda é incipiente com relação à tolerância aos níveis crescentes de contaminantes, sendo fundamental considerar sua possível utilização em sistemas de fitorremediação.

E. grandiflorus foi escolhida por ser uma macrófita enraizada com sistema radicular ramificado bastante denso, por ser uma espécie nativa e pela ausência, até momento, de estudos com essa espécie para fins remediadores em áreas contaminadas por chumbo. Objetivou-se, no presente trabalho, investigar os mecanismos fisiológicos e anatômicos relacionados à tolerância da espécie *Echinodorus grandiflorus* ssp. *grandiflorus* (Chamisso & Schlechtendal) Micheli (Alismataceae) e fornecer informações para futuros estudos para fins fitorremediadores.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Metais pesados

Metais pesados ocorrem naturalmente no ambiente, mas as atividades humanas têm contribuído com um aumento significativo de sua concentração em muitos ecossistemas terrestres e aquáticos, tornando-os biodisponíveis. A definição de metal pesado é muito variável. As definições baseiam-se em vários parâmetros como: a densidade dos elementos, a massa atômica, o número atômico, a toxicidade e outros parâmetros químicos (MACÊDO, 2002)

A expressão "metais pesados", mesmo sendo comumente usada, não é muito bem definida, podendo-se utilizar como sinônimos, "metais traço", "elementos traço", "micronutrientes", "microelementos", entre outros. Para Malavolta (1994), define-se metal pesado como os elementos que têm peso específico maior que 5 g/cm^3 ou que possuem número atômico maior que 20. Essa expressão engloba metais, semimetais e mesmo não metais, ou metaloides, como selênio. Alloway (1995) inclui o arsênio e o selênio ao termo.

Alguns metais como Cu, Zn e Co são essenciais para o crescimento e desenvolvimento das plantas. No entanto, o Cd, o Pb e o As não possuem funções fisiológicas conhecidas, e podem exercer efeitos deletérios sobre vários componentes da biosfera, quando são concentrados a valores acima de seus níveis considerados de referência (MAGNA, 2013).

2.2 O Chumbo (Pb)

O chumbo (Pb) ocorre naturalmente na crosta terrestre, mas atividades antrópicas promovem sua acumulação nos ecossistemas, ocasionando impactos ambientais. Esse elemento pode ser um dos maiores contaminantes do solo

(GRATÃO et al., 2005). É um dos maiores problemas ambientais da atualidade (SHEN et al., 2002).

Quimicamente o chumbo é um metal cinza que pertence à coluna 4A na tabela periódica, possui número atômico 82 e peso atômico 207,2 g (WIESER; COPLIN, 2011). No entanto, esse metal não possui nenhuma função biológica conhecida, é extremamente persistente no solo e na água. A intoxicação ocorre principalmente através das vias respiratória e digestória. O chumbo inorgânico distribui-se inicialmente nos tecidos moles e posteriormente, sofre redistribuição e deposição nos ossos e cabelos (SADAO, 2002).

As principais fontes de poluição do Pb são: fumaça de automóveis, chaminés de fábricas, indústria e armazenamento de baterias, galvanoplastia, fundição de minérios de Pb, pesticidas, tintas e aditivos de gasolina (SHARMA; DUBEY, 2005). Sua permanência no ambiente pode durar de 150 à 5000 anos (SAXENA et al., 1999).

Efeitos neurológicos como a encefalopatia pelo chumbo ou saturnina, representam várias doenças que afetam o cérebro (PAOLIELLO; CHASIN, 2001). É considerada a manifestação mais grave da intoxicação pelo chumbo, sendo mais comum em crianças. Nessas, a exposição ao metal resulta, algumas vezes, em nítida deterioração mental progressiva, pois as crianças são mais suscetíveis ao chumbo, cujo sistema nervoso, nas menores de seis anos, ainda está em desenvolvimento (LASAT, 2002).

Os efeitos da exposição ambiental ao Pb em crianças de 3 a 6 anos que, mesmo em concentrações sanguíneas em torno de 100 µg/dL, apresentaram danos oxidativos, provocando deficiência intelectual (JIN et al., 2006).

De acordo com a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA), o chumbo é classificado como primeiro lugar na lista de 275 substâncias perigosas, já a Agência de Substâncias Tóxicas e Registro de Doenças ele é

classificado como segunda substância mais perigosa, (AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DIASE REGISTRY, 2007).

A ocorrência de áreas degradadas por chumbo, no Brasil, torna-se cada vez mais frequente e preocupante pois, de acordo com o Ministério da Saúde, foram identificadas cerca de 220 áreas contaminadas por metais pesados, dentre eles o chumbo está presente (BRASIL, 2006).

2.3 Efeitos Fitotóxicos do Chumbo (Pb)

Apesar de não ser um elemento essencial, o Pb é facilmente absorvido e acumulado em diferentes partes das plantas. A absorção de Pb é regulada pelo pH do substrato, tamanho de partículas e capacidade de troca de cátions dos solos (CTC), assim como pela exsudatos de substâncias orgânicas pelas raízes e outras características físico-químicas. A absorção de tal metal do solo pelas raízes ocorre através da membrana plasmática, provavelmente envolvendo canais catiónicos (ROMEIRO et al., 2007).

Devido aos seus efeitos fitotóxicos, o Pb pode reduzir drasticamente a produtividade de diversas culturas, trazendo danos para agricultura e para a vegetação nativa. Muitos são os sintomas tóxicos nas plantas causados pela exposição ao Pb. Esse metal pode induzir direta e indiretamente diversas alterações morfológicas, fisiológicas e bioquímicas, tais como inibição da germinação de sementes, diminuição do crescimento da planta, diminuição da produção de clorofila, peroxidação lipídica, estresse oxidativo, danos ao material genético, alterações da atividade enzimática e produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) (SHAHID et al., 2012).

A exposição ao chumbo também pode promover clorose em folhas, escurecimento do sistema radicular, inibição da fotossíntese, alterações das relações hídricas, modificações hormonais e alterações anatômicas. Distúrbios

no metabolismo celular ou rompimento de alguma estrutura da célula podem acontecer devido à interferência do Pb sobre algum elemento essencial. (SHARMA; DUBEY, 2005).

2.4 Mecanismos de defesa contra o chumbo a nível molecular e celular apresentado pelas plantas

Em resposta aos efeitos causados pelo Pb, as plantas têm desenvolvido alguns mecanismos de tolerância. A primeira estratégia de defesa encontra-se nas raízes. Em *Lemna minor* L. respondem rapidamente à presença do elemento, formando em uma barreira mecânica com a formação e a deposição de calose entre a membrana plasmática e a parede celular (SAMARDAKIEWICZ et al., 2012).

A retenção de Pb nas raízes envolve a ligação à parede celular e precipitação extracelular, principalmente sob a forma de carbonato de chumbo. Em baixas concentrações, o Pb pode mover-se através dos tecidos da raiz, principalmente através via apoplástica e radialmente através do córtex próximo onde se acumula na endoderme (MEYERS et al., 2008).

Estudos sugerem que a absorção e tolerância ao Pb dependem do tipo do sistema radicular. A resposta de células do sistema de raízes primárias em *Lemna minor* L. foi diferente daquelas que possuem sistema de raízes adventícias, essas, apresentaram mecanismos contra a absorção do metal, evitando assim danos oxidativos, sendo mais tolerantes. Entretanto, esses mecanismos envolvidos não estão claros (MICHALAK; WIERZBICKA, 1998).

Uma revisão realizada por Inoue et al (2013) concluiu que a capacidade dos metais se ligarem à parede celular está correlacionada com a quantidade de polissacarídeos e grupos carboxílicos presentes nessa estrutura.

Segundo Kumar et al. (1995), 90% do total de Pb absorvido pelas plantas é acumulado na raiz. Esse metal é localizado na parte insolúvel da parede celular, sendo esse fato interpretado como um mecanismo de desintoxicação. As raízes são capazes de acumular quantidades significativas desse metal pesado e simultaneamente impedir sua translocação para a parte aérea (ROMEIRO et al., 2006).

Algumas espécies apresentam a formação de plaquetas de ferro (Fe) e manganês (Mn) na parte superficial da rizosfera que podem impedir a absorção do metal (HANSEL, 2002).

Estudos ultraestruturais têm demonstrado que o Pb se acumula principalmente nos espaços intercelulares, parede celular, deposita-se em pequenos vacúolos, retículo endoplasmático, dictiossomos e pequenas vesículas derivadas dos dictiossomos (ROMEIRO et al., 2006).

Processos endocíticos e exocíticos estão envolvidos na desintoxicação do metal. A membrana plasmática atua como uma barreira. Invaginações da membrana e a formação de algumas vesículas derivadas do dictiossomo e retículo endoplasmático sequestram e previnem a circulação livre do Pb no citoplasma (CLEMENS, 2006). Este autor ainda menciona que o vacúolo é o último compartimento de armazenamento do Pb. Em níveis elevados de Pb Meyers et al. (2008), sugere que há um aumento significativo na produção de vacúolos, isso pode ser uma estratégia de defesa. Em contrapartida, o Pb pode ser transportado para parte aérea via xilema (HANC et al., 2009).

Um dos efeitos fisiológicos à exposição ao Pb são os distúrbios causados nas membranas dos tilacóides, induzindo à formação de espécies reativas de oxigênio (EROS), como superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e hidroxila (HO^\cdot). A presença do Pb faz com que a quantidade dessas formas reduzidas de oxigênio sejam produzidas de forma desequilibrada (LIU et al.,

2010). Esse estresse oxidativo pode causar peroxidação lipídica e danificar as membranas comprometendo a integridade celular (SHARMA; DIETS, 2009).

Para se protegerem contra injúrias nas células e tecidos, as plantas possuem um sistema antioxidante enzimático como a catalase (CAT), redutase da glutathione (GSH) e a dismutase superóxido (SOD). Em adição há antioxidantes não enzimáticos de baixo peso molecular, tais como a prolina, cisteína, ácido ascórbico, carotenóides, flavonoides, fenóis, glutathione (MALECKA; PIECHALAK; TOMASZEWSKA, 2009; HERNÁNDEZ et al., 2009). As respostas à toxicidade do metal envolvendo sistema antioxidante enzimático e não enzimático depende da espécie, do tipo de tecido e do tipo e concentração do metal (HUANG; HUANG, 2008).

2.5 Modificações anatômicas causadas pelo Pb.

Fitotoxicidade causada pelo chumbo pode afetar a morfologia e anatomia dos órgãos das plantas. As raízes são o primeiro órgão a entrar em contato com o contaminante e essa estrutura pode apresentar modificações como: o aumento da espessura da exoderme e endoderme e também pode haver lignificação e suberização dessas estruturas. A formação desses tecidos servem como barreiras apoplásticas e servem para impedir a penetração de água, íons, podendo desempenhar um papel importante de proteção contra estresses provocados por metais pesados (CHENG et al., 2012).

Como observado por Oliveira (2010), os tecidos das raízes como epiderme, exoderme e endoderme podem apresentar um aumento na espessura. Esses tecidos podem reduzir a translocação do Pb para a parte aérea (OLIVEIRA, 2010).

Pode haver diminuição no córtex e na proporção dos tecidos vasculares, no entanto o aumento do comprimento e diâmetro das fibras pode ocorrer (AHMAD et al., 2005)

As folhas são órgãos extremamente plásticos e respondem bem às variações ambientais. Dentre as disfunções morfológicas e anatômicas causadas pelo chumbo estão: redução do tamanho das células epidérmicas, redução da cutícula, alteração no número de tricomas e estômatos, alterações do tamanho das células-guarda. Esses efeitos podem afetar a fotossíntese, transpiração e balanço energético nas folhas (WERYSZKO-CHMIELEWSKA; HWIL, 2005).

O Pb também pode promover a diminuição na densidade de tricomas em ambas epidermes. Modificações em tecidos como o parênquima paliçádico, parênquima esponjoso, e nos tecidos vasculares podem ocorrer (CASTRO; PEREIRA; PAIVA, 2009).

2.6 Fitorremediação

A deposição de metais pesados nos ecossistemas tem se agravado pelo aumento das atividades industriais e agrícolas. Dessa forma, a sanidade humana e de outras espécies têm sido comprometidas, ao passo que esses avançam na cadeia alimentar. Tecnologias para remediar ambientes contaminados vêm sendo usadas. As técnicas tradicionais para a remediação de solos contaminados com metais apresentam custo elevado, trazem danos aos ecossistemas e podem afetar a saúde de pessoas diretamente envolvidas no processo (JADIA et al., 2009). Neste contexto, a busca por outras técnicas, de baixo custo e mais simples de serem executadas como a fitorremediação, surge como uma estratégia interessante para a descontaminação de ambientes poluídos (ALI; KHAN; SAJAD, 2013).

Esta técnica pode ser definida como uma engenharia que utiliza plantas verdes para remover, conter ou minimizar, em quantidades inofensivas, os contaminantes do ambiente tais como: metais pesados, elementos-traço, compostos orgânicos e radioativos do solo e da água. Nessa definição incluem-se os processos biológicos, químicos e físicos que são usados pelas plantas para absorver, sequestrar, degradar e metabolizar o contaminante (TANGAHU et al., 2011).

A fitorremediação apresenta elevado potencial de utilização, devido às vantagens que apresenta em relação às outras técnicas tradicionais pois essa tem sido considerada menos onerosa do ponto de vista econômico, já que a fonte de energia utilizada é a solar. É considerado um método ecologicamente correto, pois o emprego de plantas é mais favorável esteticamente, e pode ser aplicado com o mínimo de distúrbio ambiental (PILON-SMITHS, 2005).

No entanto, apesar de todas as potencialidades, a fitorremediação apresenta algumas limitações e dificuldades: a seleção de espécies tolerantes é o principal fator limitante, o contaminante deve estar dentro da zona de alcance do sistema radicular, o clima e as condições edáficas podem restringir o crescimento das plantas, a presença do contaminante na espécie pode favorecer a contaminação da cadeia alimentar, o tempo de despoluição pode ser longo, as plantas devem ser retiradas das áreas contaminadas para receber destinação correta (PILON-SMITHS, 2005; PROCÓPIO et al., 2009).

Os mecanismos pelo quais as plantas removem os contaminantes do ambiente variam conforme as características dos compostos e propriedades das plantas. São mecanismos utilizados: fitoextração (absorção e acumulação de poluentes nos tecidos da planta), fitodegradação (degradação dos poluentes pelas plantas e microorganismos associados), fitoadsorção (adsorção dos poluentes no sistema radicular, imobilizando os contaminantes), fitoestabilização (liberação de compostos que podem imobilizar os poluentes); fitovolatilização (volatilização

dos poluentes para a atmosfera por intermédio das plantas) e rizofiltração (absorção dos poluentes pelas raízes de plantas em ambiente aquático) (PILON-SMITS, 2005; YAO et al., 2012).

É importante ressaltar que a destinação do material utilizado na fitorremediação nem sempre é a incineração. Dependendo da espécie, a capacidade de acumulação e risco ambiental apresentado, o material pode ser depositado em aterro, coprocessado na fabricação de cimento, ou na produção de fibras. Há também a possibilidade de recuperar-se o metal, após a colheita da espécie (ANDRADE; TAVARES; MAHLER, 2007).

Apesar de a fitorremediação apresentar grande versatilidade, para que sua aplicação seja efetiva, o contaminante não pode ser fitotóxico para a espécie em questão. Esta, deve produzir grandes quantidades de biomassa, manter seu metabolismo mesmo em grandes concentrações do metal, ser capaz de adaptar-se às condições do ambiente impactado, ser de fácil colheita, reprodução vegetativa e resistência à pragas e doenças (OLIVEIRA, 2006).

Nesta perspectiva, a fitorremediação é considerada uma técnica promissora e inovadora na descontaminação ambiental, mas estudos a fim de avaliar a tolerância de espécies nativas com o potencial fitorremediador ainda são incipientes.

2.7 Macrófitas

A partir de estudos com plantas que crescem desde locais encharcados até ambientes totalmente submersos, surgiu o termo macrófitas aquáticas, aceito e adotado pelo *International Program of Biology*. No entanto, vale ressaltar que as macrófitas aquáticas enraizadas são eficazes na absorção de nutrientes das camadas profundas do sedimento, tornando-os disponíveis nas camadas mais

superficiais da água através da excreção e decomposição (SILVA; MARQUES; LOLIS, 2012).

As macrófitas aquáticas têm a capacidade de ocupar vários ambientes em função de apresentarem diferentes graus de plasticidade morfoanatômica e fisiológicas, o que lhes garante vantagem adaptativa, permitindo sua colonização e sobrevivência sob condições que seriam consideradas adversas para outras espécies (TARDIVO; BACH; MORO, 2007).

Segundo Esteves (1998), a distribuição das macrófitas é variável, apresentando as seguintes formas de vida de acordo com a altura com que o nível da água atinge o corpo dessas espécies: Anfíbia - vive bem tanto em área alagada como fora da água; Emergente – enraizada no fundo, parcialmente submersa; Flutuante fixa - enraizada no fundo, com caule e/ou ramos e/ou folhas flutuantes; Flutuante livre - não enraizada no fundo, podendo ser levada pela correnteza; Submersa fixa - enraizada no fundo, com caule e folhas submersas, geralmente com a flor para fora d'água; Submersa livre - não enraizada no fundo, totalmente submersa, emergindo somente a flor; Epífita - se instala sobre outras plantas aquáticas.

As macrófitas (aquáticas submersas enraizadas e emergentes) ganharam importância mundial por apresentarem eficiência para remover uma variedade de contaminantes, orgânicos e inorgânicos (DIRH; SHARMILA; SARADHI, 2009).

Pesquisas sobre o papel funcional desempenhado pelas macrófitas aquáticas nos ecossistemas límnicos revelam a grande importância dessas espécies, capazes de estabelecer uma fonte de intercâmbio entre o ecossistema aquático e o ambiente terrestre (VIANA et al., 2010).

2.8 *Echinodorus grandiflorus* ssp. *grandiflorus* (Alismataceae)

Plantas da família Alismataceae são ervas flutuantes ou emersas que vivem em ambientes úmidos ou de água parada. Essa família é composta por 11 gêneros e 75 espécies que habitam zona tropical e temperada. O gênero *Echinodorus* possui 26 espécies que ocorrem principalmente na região dos trópicos na América do Sul (HAYNES; HOLM-NIELSEN, 1994), sugerem que a espécie teve origem no Sul do Brasil, sendo introduzida na América do Norte para fins ornamentais (LEHTONEN, 2009).

Echinodorus grandiflorus é uma macrófita enraizada com folhas emergentes, popularmente conhecida como chapéu-de-couro, chá-de-mineiro, erva-de-pântano, cegonha-do-brejo, erva-do-brejo (CARDOSO; PEREIRA; LAINETTI, 2003; CARDOSO; PEREIRA; LAINETTI, 2005;). Ocorre desde os Estados Unidos até a Argentina, estando restrita ao hemisfério ocidental (LEHTONEN, 2008).

Esta espécie é abundante durante a cheia, chegando a dominar locais inundados e solos argilosos férteis, podem desaparecer completamente durante a seca do Pantanal brasileiro, é considerada resistente ao fogo, pois o rizoma permanece viável após o fogo (POTT; POTT, 2000). Segundo Lorenzi (2000), essa espécie pode infestar canais de irrigação e cursos de água rasos, margens de rios e lagos, baixadas pantanosas e lavouras de arroz, sendo considerada daninha.

No Brasil, é encontrada nos estados de Mato Grosso do Sul, Minas Gerais e São Paulo (MATIAS, 2010). Vivem em áreas alagadas de água doce, são perenes, com rizomas acaulescentes, hastes e pecíolos glabos ou pubescentes, possui látex, flores brancas perfeitas ou imperfeitas e os frutos são do tipo aquênios. As folhas são emersas, coriáceas, com lâminas ovais com ápice agudo e a base levemente cordada (LEHTONEN, 2008). É encontrada em

mananciais aquáticos ou cultivada para fins medicinais (LORENZI, 2000; LORENZI; MATOS, 2002).

Diversos estudos têm demonstrado suas propriedades terapêuticas, utilizada em diferentes tratamentos. Um estudo etnobotânico realizado por Botrel et al. (2006) mostrou que ela é amplamente utilizada pela população para fins terapêuticos nos municípios de Minas Gerais. Extratos das folhas de *E. grandiflorus* demonstraram efeitos anti-inflamatório (BRITO et al., 1999), vasodilatador (ALMEIDA et al., 2003) e hipoglicemiante (BARBOSA-FILHO et al., 2005), atividade diurética (CARDOSO; PEREIRA; LAINETTI, 2003), redução do colesterol (CARDOSO; PEREIRA; LAINETTI, 2005), e anti-hipertensivo (LESSA et al., 2008), antirreumática, sendo também usada para combater ácido úrico e problemas de pele (TESKE; TRENTINI, 2001).

Em relação aos aspectos ecológicos, *E. grandiflorus* é importante, pois serve para a alimentação e refúgio de várias espécies e também evitam erosão (JOAQUIM et al., 2010). Segundo Bevilaqua, Nedel e Zuanazzi (2001), o grande extrativismo dessa espécie, em algumas regiões, devido às suas propriedades medicinais, predispõem - na a risco de extinção.

Segundo a descrição anatômica realizada por Leite, França e Scatena (2012), *E. grandiflorus* apresentam raízes com córtex externo constituído pela exoderme (hipoderme), formada por duas a três camadas de células hexagonais e com parede periclinal externa mais espessada que as demais. O córtex mediano apresenta células braciiformes; córtex interno apresenta várias camadas de células arredondadas de tamanho menor que as demais e com redução de espaço intercelular. A camada mais interna, a endoderme, é unisseriada, com células de paredes delgadas, onde se evidenciam estrias de Caspary. O cilindro vascular dessa espécie possui vários elementos de metaxilema ocupando a região central.

As folhas são anfiestomáticas, em secção paradérmica apresenta células sinuosas com estômatos paracíticos. Em secção transversal é unistratificada com

parede periclinal externa mais espessada que a interna e com cutícula fina. O mesofilo é dorsiventral, o parênquima clorofiliano apresenta três camadas de células voltadas para a face adaxial da lâmina foliar. O parênquima esponjoso apresenta cerca de cinco camadas de células com redução dos espaços intercelulares. O mesofilo apresenta feixes colaterais dispostos em uma única fileira com fibras pericíclicas. Há uma grande nervura central que possui de dois a seis feixes vasculares. Logo abaixo da epiderme ocorre colênquima lacunar. Também foram observados, tanto nas raízes, quanto nas folhas, a presença de idioblastos contendo compostos fenólicos e também cristais na forma de ráfides e drusas (LEITE; FRANÇA; SCATENA, 2012).

O pecíolo apresenta epiderme unisseriada, coberta por cutícula delgada. O parênquima clorofiliano está presente, parênquima fundamental está localizado nas projeções do sulco desse órgão. Essas células contêm grãos de amido e monocristais. Observam-se câmaras de ar constituindo o arênquima, circundado por 16 a 25 células parenquimáticas. Essas câmaras apresentam - se como colunas Os feixes vasculares são colaterais e ocorrem ao longo da circunferência do pecíolo e aerênquima. O floema ocorre externo ao xilema e apresenta células companheiras, elementos crivados e uma quantidade de fibras perivasculares não lignificadas. Canais secretores estão presentes no parênquima, entre as lacunas de ar e ao redor de todo pecíolo (BONA; BOEGER; SANTOS, 2004).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local de execução

O experimento foi realizado em casa de vegetação do Departamento de Biologia. As análises foram realizadas nos seguintes laboratórios: Anatomia Vegetal do Departamento de Biologia e no Laboratório de Análise Foliar do Departamento de Química Universidade Federal de Lavras (UFLA-MG).

3.2 Obtenção do material vegetal

Plantas de *E. grandiflorus* foram coletadas em uma área alagada próxima à região de Lavras - MG, livre de aparentes fontes de contaminação. Após a coleta, as plantas foram lavadas e selecionadas quanto à qualidade fitossanitária e por uniformidade de tamanho.

Em seguida, foram levadas para a casa de vegetação do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras, onde foram cultivadas em solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950) modificada, com 40% de força iônica e vermiculita como substrato. Permaneceram na casa de vegetação por três meses para formação dos clones.

3.3 Planejamento experimental

Os clones foram uniformizados quanto ao tamanho, foram transferidos para bandejas plásticas com capacidade para sete litros. Para montagem do experimento as plantas foram uniformizadas com base em critérios de tamanho e fitossanidade. Os tratamentos foram constituídos de seis diferentes

concentrações de chumbo sendo: zero (controle), 0,75; 1,5; 3,0 6,0 e 9,0 μM de A fonte de chumbo usada foi o $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$.

As concentrações de Pb que foram utilizadas nos diferentes tratamentos foram obtidas com base no valor máximo permitido (VMP) de Pb total para lançamento de efluentes em corpos de água doce, estabelecidas com base na Resolução nº 430 de 13 de Maio de 2011, que dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, que complementa e altera a Resolução nº 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. De acordo com essa resolução, o valor máximo permitido para o chumbo é de 0,5 mg L (BRASIL, 2011). O experimento teve duração de 90 dias em delineamento inteiramente casualizado, com seis tratamentos e quatro repetições. A parcela experimental foi constituída de uma bandeja, com uma planta. A troca de solução foi realizada a cada vinte dias.

3.4 Análises de crescimento

Foram selecionadas e coletadas quatro plantas por tratamento, em dois tempos: tempo um, no início do experimento e tempo dois, após 90 dias, ao final do experimento. As plantas foram separadas em folhas, rizomas e raízes. Foi realizada a contagem do número de raízes. Medições do comprimento e diâmetro da maior raiz também foram realizadas utilizando paquímetro digital. Em seguida, todo o material foi colocado em estufa de circulação forçada, a 60°C, até massa constante. Os dados de massa fresca, massa seca das folhas, raízes e rizomas foram obtidos em balança analítica.

Foi realizada e mensuração da alocação de biomassa e o teor de massa fresca.

3.5 Trocas gasosas

Trocas gasosas foram avaliadas em dois momentos: aos 30 e 90 dias de exposição aos tratamentos de chumbo. Foram avaliadas as características de trocas gasosas das plantas por meio de um analisador de trocas gasosas por infravermelho (IRGA) modelo L16400XT (Li-Cor Inc., Nebraska, USA). Foram avaliadas a taxa fotossintética (A), a condutância estomática (gs), a taxa transpiratória (E) e a relação entre carbono interno e externo (Ci/Ca), de uma folha completamente expandida em cada repetição. As análises foram realizadas no período da manhã entre 8h e 10h. A densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos foi fixada no aparelho para $1.000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

3.6 Concentração de clorofila

O teor de clorofila nas folhas foi determinado utilizando-se o medidor portátil de clorofila SPAD-502 (Konica Minolta, Tokyo, Japan). Foi avaliada uma planta por tratamento, medindo duas folhas na região mediana do limbo foliar. Das duas leituras, foi calculada a média para cada folha amostrada.

3.7 Análise nutricional

Para a análise nutricional, raízes, rizomas e folhas de uma planta por repetição, foram lavados em água corrente e secos em estufa a 60°C , por 72h. Em seguida, a biomassa de cada órgão foi triturada em moinho de facas tipo Wiley. Depois de triturado, 500 mg de massa seca foi pesada em balança analítica. Após esse procedimento, o material vegetal foi levado para digestão nitroperclórica, segundo método proposto por Sarruge e Haag (1974). Dessa forma, foram misturados 10 mL de HNO_3 concentrado, deixando-se as amostras

em repouso, durante 12 h. A digestão foi feita a uma temperatura de 150 °C, por 30 minutos até a redução de, aproximadamente, a metade do volume de ácido nítrico adicionado. Depois desse período, foi adicionado 1,0 mL de HClO₄ P.A. e a temperatura do bloco digestor aumentada para 210°C por 20 minutos, até o clareamento da solução. O produto da digestão (amostra) foi transferido para balão volumétrico de 25 mL, acrescentado 10 mL de água destilada e levados para leitura em Espectrômetro de Absorção Atômica, modalidade chama, fazendo três avaliações para cada órgão, com parcela experimental de uma alíquota do produto da digestão. Foram determinados o teor de chumbo (Pb), macronutrientes [Nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), Magnésio (Mg) e Enxofre (S) e micronutrientes [Cobre (Cu), Manganês (Mn), Zinco (Cu) e Ferro (Fe)] nas raízes, rizomas e folhas. Essa análise foi realizada no Laboratório de Análise Foliar do Departamento de Química (DQI), na Universidade Federal de Lavras.

3.8 Análise Anatômica

Aos 30 e 90 dias, duas folhas e duas raízes de cada repetição foram coletadas, lavadas em água corrente e fixadas em F.A.A. - (formaldeído, ácido acético glacial P.A. e etanol 70%, na proporção de 0,5: 0,5: 9), por um período de 72 horas e, posteriormente, conservadas em etanol 70% (KRAUS; ARDUIN, 1997). Para confecção do laminário permanente, as amostras foram desidratadas em série etílica, infiltradas e incluídas em hidroxietil-metacrilato Leica® (Heidelberger, Alemanha), seccionadas em micrótomo semiautomático, (KD-3368, Ciencor Scientific, São Paulo, Brasil). Foram realizados doze cortes de cada folha e de cada raiz, coradas com azul de toluidina (O'BRIEN; FEDER; MCCULLY, 1990) e montadas em bálsamo do Canadá. Foram amostrados dez campos por corte.

As lâminas foram analisadas em microscópio trinocular Olympus CX41, com sistema de captura acoplado, sendo as análises realizadas em um software de análise de imagens Image Tool versão 3.0 (UTHSCSA..., 2002). As características anatômicas avaliadas na folha em secção transversal foram: espessura da epiderme na face abaxial, espessura da epiderme na face adaxial, espessura do mesófilo, espessura do parênquima paliçádico, espessura do parênquima esponjoso, a proporção de feixes vasculares na nervura central, a proporção de xilema nos feixes vasculares, a proporção de floema nos feixes vasculares, a proporção de fibras nos feixes vasculares, a proporção da bainha nos feixes vasculares e o diâmetro dos elementos de vaso do xilema.

Na raiz foram avaliadas: espessura da epiderme, espessura da exoderme, espessura do córtex, espessura da endoderme, proporção de xilema no cilindro vascular, proporção de floema no cilindro vascular, proporção de elementos de vaso no xilema e proporção de elementos de vaso no cilindro vascular. As proporções dos tecidos foram calculadas com base na divisão da área do tecido pela área total da estrutura em que se encontram, multiplicada por 100.

3.9 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas, utilizando-se o software SISVAR 5.0 (FERREIRA, 2011). Antes da realização de uma análise paramétrica, os dados foram testados quanto à sua normalidade e os que não apresentaram distribuição normal, foram transformados. Os dados foram submetidos à análise de variância em delineamento inteiramente casualizado e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott, com 5% de probabilidade de erro, ou submetidos ao teste de regressão.

3.10 Tratamento de resíduos contaminados

Partes das plantas e a vermiculita contaminadas com Pb foram encaminhadas ao Laboratório de Gestão de Resíduos Químicos da UFLA, para o correto tratamento e disposição final desses resíduos.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Teor de Pb em *Echinodorus grandiflorus* ssp. *grandiflorus*

O teor de Pb total em plantas de *E. grandiflorus* foi de 113,74 mg kg⁻¹ de massa seca (Fc = 137, 83; p< 0,01) (Figura 1A). O Pb não é considerado tóxico para a maioria das espécies de plantas até valores entre 5 e 10 mg Kg⁻¹ de massa seca das plantas, sendo que, entre 30 e 300 mg Kg⁻¹ do elemento na massa seca é considerada tóxica (SHIKHOVA, 2012). Portanto, *E. grandiflorus* manteve seu metabolismo ativo, sem afetar a fotossíntese, o conteúdo de clorofila mantendo seu crescimento mesmo em concentrações de Pb consideradas tóxicas, apresentando ser uma espécie tolerante ao metal.

Os teores de Pb nas raízes e rizomas foram maiores do que nas folhas (Fc = 20,40 p< 0,01). O aumento do teor de Pb na solução promoveu um aumento linear do teor de Pb, para os três órgãos analisados (Figura 1B). O conteúdo de Pb nos três órgãos analisados variou de acordo com as diferentes concentrações usadas. Sendo que, nas menores concentrações, o teor de chumbo foi maior nas raízes e rizomas do que nas folhas, e na concentração intermediária de 3µM o rizoma foi o órgão que apresentou maior teor do metal. Nas duas maiores concentrações, as raízes e rizomas apresentaram maiores teores de Pb do que as folhas (Figura 1C).

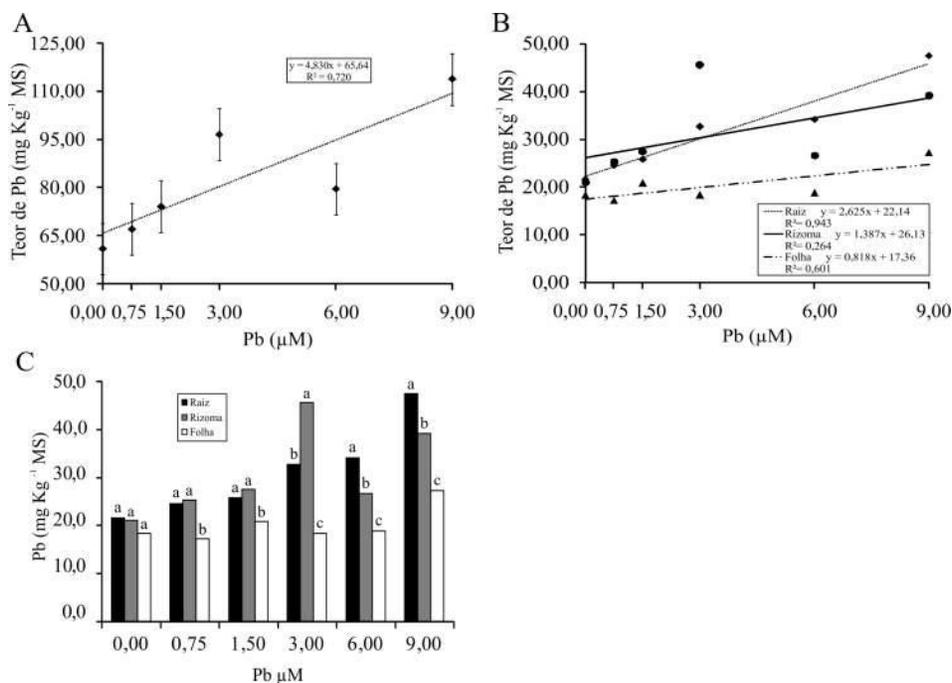


Figura 1 A- Teor total de Pb em plantas de *E. grandiflorus*; B - Acúmulo e alocação de Pb nos diferentes órgãos de *E. grandiflorus* expostas a concentrações crescentes de chumbo, por um período de 90 dias; MS - massa seca; C - Interação Pb x órgão expostas a crescentes concentrações de chumbo, por um período de 90 dias. Barras equivalem ao erro padrão

De acordo com Sharma e Dubey (2005), o conteúdo de Pb nos órgãos vegetativos tende a diminuir na seguinte ordem: raiz é maior do que nas folhas, esta é maior do que nos caules. O teor de Pb em *E. grandiflorus* foi maior nos órgãos subterrâneos (raízes e rizomas) do que na parte aérea. Resultados semelhantes foram observados com a compartimentalização do Pb nas raízes, por Alves et al. (2008), que avaliaram a tolerância, absorção e distribuição do elemento em plantas de vetiver (*Vetiveria zizanioides* (L.) Nash), jureminha (*Desmanthus virgatus* (L.) Willd) e algaroba (*Prosopis juliflora* (SW) DC), e observaram que os maiores teores de Pb, nas três espécies estudadas, foram

compartimentalizados nas raízes, em comparação com a parte aérea. Probst et al. (2009) também encontraram maiores teores do metal nas raízes e caules do que nas folhas em *Vicia faba*. Kumar, Prasad e Sytar (2012) encontraram resultados semelhantes em *Talinum triangulare* (Jacq.) Willd (espinafre Ceilão).

Em trabalho com um total de 25 espécies utilizadas em estudos de fitorremediação para o Pb, todas acumularam maior conteúdo do metal na raiz, em comparação com a parte aérea (TANGAHU et al., 2011). Esse acúmulo pode estar relacionado com o espessamento das barreiras apoplásticas radiculares (SHARMA; DUBEY, 2005; CASTRO; PEREIRA; PAIVA, 2009). Esse pode ser um dos mecanismos de tolerância ao Pb em *E. grandiflorus* impedindo que grandes quantidades de Pb fossem translocadas para parte aérea e prejudiquem os processos metabólicos que ocorrem na folha. Portanto, a compartimentalização do Pb nas raízes e rizomas e a manutenção de teores desse elemento nas folhas, mesmo com o aumento do Pb na solução, pode ter sido o principal fator que determinou a sobrevivência das plantas de *E. grandiflorus*, durante a exposição prolongada, caracterizando, portanto, uma estratégia de tolerância ao Pb.

4.2 Efeito do chumbo no crescimento de plantas de *E. grandiflorus*

Não houve diferença significativa para alocação de biomassa para os seguintes órgãos analisados em *E. grandiflorus*: raízes (Fc = 0,581 p = 0,7144) com média geral 71,161%; rizomas (Fc = 0,581 p = 0,7144) com média geral 28,838% e folhas (Fc = 0,469 p = 0,7921) média geral 12, 263% da massa seca produzida pelas plantas. Também não foram encontradas diferenças significativas para massa fresca produzida pelas raízes (Fc = 1, 478 p = 0, 2677) média geral 32, 210 g por repetição, rizomas (Fc = 1, 378 p = 0, 2994) média geral 7, 821 g e folhas (Fc = 0, 999 p = 0, 4588) média geral 1, 842 g.

O chumbo não promoveu modificações significativas no número de raízes produzidas no sistema radicular de *E. grandiflorus* ($F_c = 0,41$ e $p = 0,83$) como ilustrado na Tabela 1. Também não foram encontradas diferenças significativas para o comprimento ($F_c = 0,97$ e $p = 0,45$) e para o diâmetro da maior raiz do sistema radicular de *E. grandiflorus* ($F_c = 0,46$ e $p = 0,79$), de acordo com o ilustrado na (Tabela 1).

Tabela 1 Características biométricas do sistema radicular de *Echinodorus grandiflorus*, em função das diferentes concentrações de chumbo na solução nutritiva

Concentrações de Pb (μM)	Número de raízes por repetição	Comprimento da maior raiz (cm)	Diâmetro da maior raiz (cm)
0,00	40,00 a	48,75 a	0,025 a
0,75	29,00 a	54,75 a	0,247 a
1,50	35,25a	59,00 a	0,225 a
3,00	37,75 a	37,75 a	0,174 a
6,00	33,00 a	43,50 a	0,260 a
9,00	27,00 a	35,25 a	0,181 a

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si (pelo teste de Scott-Knott para $p < 0,05$).

Segundo Sharma e Dubey (2005), o Pb promove redução no crescimento das plantas. Observa-se ainda, que esse elemento reduz drasticamente o crescimento de raízes de plantas de alface (planta usada como bioteste e claramente não tolerante) e essa redução atua principalmente modificando a atividade meristemática e anatomia do sistema radicular (PEREIRA et al., 2013). Islam et al. (2007) estudando a toxicidade induzidas pelo chumbo encontraram a redução do comprimento e diâmetro das raízes de dois ecótipos de *Elsholtzia argyi*. Gupta et al. (2013) observaram que, em *Pfaffia glomerulata*, na presença de 400 μM de Pb, por um período de 28 dias, houve redução da massa seca, massa fresca e no comprimento das raízes dessa espécie.

Dessa forma, *E. grandiflorus* parece tolerar a presença de Pb sem efeitos fitotóxicos evidentes, como relatado na literatura, demonstrando que mantém-se seu crescimento radicular mesmo na presença desse elemento. Em consequência, *E. grandiflorus* possui a mesma capacidade de absorver água e nutrientes, mesmo na presença do elemento, característica essencial para uma planta tolerante, apresentando ser uma característica benéfica para crescer em áreas contaminadas por chumbo.

4.3 Trocas gasosas em *Echinodorus grandiflorus* expostas ao chumbo

Em relação às trocas gasosas de *E. grandiflorus* submetido ao Pb houve diferença significativa apenas para a taxa transpiratória, sendo que essa sofreu uma redução nas menores concentrações de Pb aumentando, nas concentrações de 6 e 9 μM em 32,67% contudo, ainda demonstrando valores semelhantes ao do controle (Figura 2A). A taxa fotossintética foi semelhante entre os tratamentos ($F_c = 1,464$; $p = 0,222$) não sendo modificada pelas diferentes concentrações de Pb (Figura 2B). Resultados semelhantes foram observados para a condutância estomática (Figura 2C) e relação C_i/C_a (Figura 2D), sem modificações em função da presença de Pb.

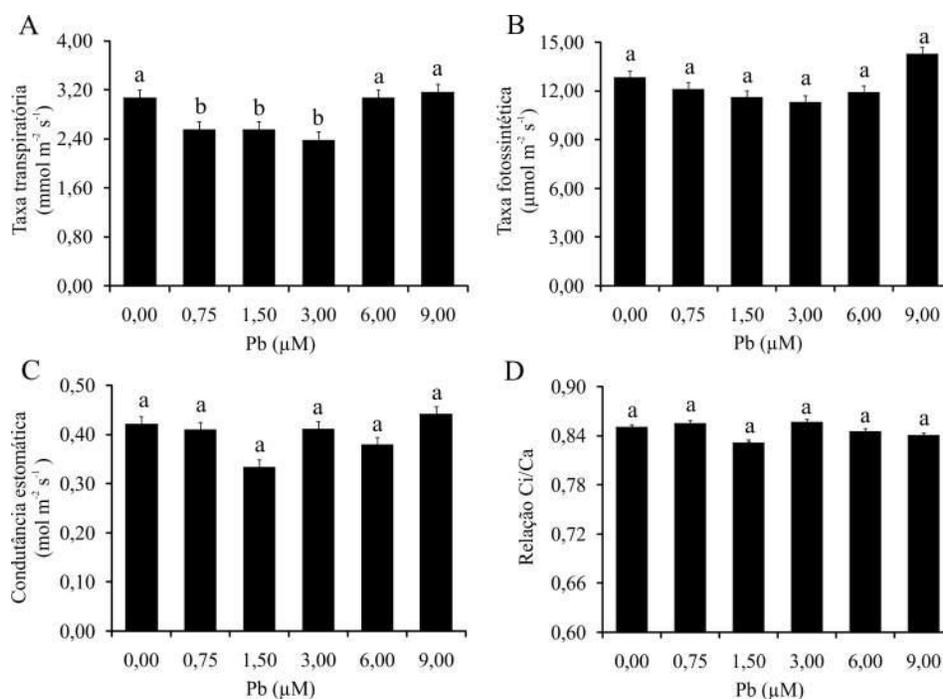


Figura 2 Trocas gasosas foliares em plantas de *E. grandiflorus* expostas à concentrações crescentes de chumbo por um período de 90 dias; A – Taxa transpiratória, B – Taxa fotossintética, C – condutância estomática, D – Relação Ci/Ca. As médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade de erro. Barras equivalem ao erro padrão.

A taxa transpiratória depende da abertura e fechamento dos estômatos e da transpiração cuticular. O controle do fechamento dos estômatos pode depender da sinalização por meio de fitormônios como o ácido abscísico ou outros sinalizadores celulares como o peróxido de hidrogênio, sendo a produção desses sinais modificadas por estresses ambientais (TAIZ; ZEIGER, 2004). O Pb pode promover a formação de espécies reativas de oxigênio como o peróxido de hidrogênio (GRATÃO et al., 2005). Dessa forma, pode ter ocorrido a produção de sinalizadores celulares como o peróxido de hidrogênio nas concentrações mais baixas de Pb, levando ao fechamento estomático. Contudo, nas maiores

concentrações pode ter ocorrido uma alta toxicidade, levando ao aumento da taxa transpiratória pela perda da capacidade de controle do fechamento dos estômatos.

Apesar dessas modificações, sabe-se que um dos processos metabólicos mais sensíveis ao Pb é a fotossíntese (AHMAD et al., 2011), porém *E. grandiflorus* ssp. não demonstra sinais de toxicidade do Pb para a fotossíntese líquida, sendo um importante fator para definir a tolerância ao chumbo para essa espécie pois permitirá uma produção adequada de biomassa e o crescimento. O mesmo pode ser relatado para a condutância estomática e razão Ci/Ca, demonstrando que essa espécie possui a mesma capacidade de captar CO₂ do ambiente e assimilar esse gás na presença de Pb.

Não ocorreram diferenças significativas no teor de clorofila em *E. grandiflorus* em nenhum dos tempos em função dos diferentes tratamentos (Fc = 0,896 e p = 0,4943), média geral 40,44 unidades SPAD. O Pb pode promover a degradação da clorofila afetando diretamente o potencial fotossintético das plantas expostas, sendo que plantas tolerantes não demonstram tal degradação (ROBERTS; BOYLEN; NIERRZWICK-BAUER, 2014).

A redução do teor de clorofila em algumas espécies em função da fitotoxicidade do Pb é relatada para diferentes espécies de plantas não tolerantes e pode reduzir drasticamente a capacidade de crescimento desses organismos. Kumar, Prasad e Sytar (2012) observaram que, em *Talinum triangulare*, houve redução significativa do conteúdo de clorofila.

No entanto, os resultados sugerem que *E. grandiflorus* pode ser tolerante aos efeitos do Pb na degradação de clorofilas possibilitando o seu crescimento nessas condições. Dessa forma, o Pb não causa modificações no teor de clorofilas de *E. grandiflorus*, demonstrando potencial dessa planta para a fitorremediação desse elemento.

4.4 Nutrição de plantas *E. grandiflorus* expostas ao chumbo

Os teores de macro e micronutrientes nas raízes, rizomas e folhas das plantas de *E. grandiflorus* foram modificados em função das concentrações de chumbo aplicadas na solução nutritiva e são mostrados na (Tabelas 2 e 3).

Tabela 2 Concentrações de macronutrientes (em % massa/massa) em órgãos vegetativos de *E. grandiflorus*, cultivada em diferentes concentrações de Pb

		CONCENTRAÇÕES DE Pb (μM)					
		0,00	0,75	1,50	3,00	6,00	9,00
N%	Raiz	1,52 bA	1,33 cA	1,56 cA	1,37 cA	1,54 bB	1,80 cA
	Rizoma	2,21 aB	2,08 aA	2,55 aA	1,89 bB	1,46 cC	2,08 bB
	Folha	2,21 aB	1,91 bB	2,32 bB	2,02 aA	2,53 aA	2,12 aA
P%	Raiz	0,22 bA	0,23 bA	0,24 bA	0,25 bA	0,29 bA	0,25 bA
	Rizoma	0,17 cA	0,18 cA	0,19 cA	0,17 cA	0,17 cA	0,17 cA
	Folha	0,32 aA	0,33 aA	0,37 aA	0,37 aA	0,39 aA	0,32 aA
K%	Raiz	2,37 aA	2,42 aA	2,36 aA	2,39 aA	2,44 aA	2,42 aA
	Rizoma	0,63 cA	0,77 bA	0,96 cA	0,58 cA	1,06 cA	0,55 cA
	Folha	1,29 bA	2,42 aA	1,23 bA	1,21 bA	1,21 bA	1,11 bA
Mg%	Raiz	1,10 cC	1,03 bC	0,89 cC	1,84 aA	1,16 aB	1,24 bC
	Rizoma	1,92 bA	1,11 bB	1,52 cA	1,52 cA	0,63 bB	1,12 bB
	Folha	2,01 aB	1,41 aB	2,02 aA	1,20 aA	1,32 aB	1,74 aB
S%	Raiz	0,23 aB	0,24 bA	0,24 aB	0,23 aA	0,25 bB	0,25 aB
	Rizoma	0,20 bA	0,19 aA	0,18 bB	0,14 bA	0,14 aB	0,15 bB
	Folha	0,08 cA	0,24 bA	0,14 bA	0,07 cA	0,14 cA	0,14 bA

Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Scott – Knott, a 5% de significância.

Tabela 3 Concentrações de micronutrientes em mg Kg⁻¹ de massa seca nos órgãos vegetativos de *E. grandiflorus*, cultivada em diferentes concentrações de Pb

		CONCENTRAÇÕES DE Pb (µM)					
		0,00	0,75	1,50	3,00	6,00	9,00
Cu	Raiz	9,50 bA	8,11 bA	6,80 cA	10,4 bA	7,26 bA	11,4 bA
	Rizoma	17,3 aA	16,8 aA	22,6 aA	20,1 aA	10,3 aA	23,1 aA
	Folha	5,30 cA	5,70 cA	5,13 bA	3,72 cA	5,91 cA	3,93 cA
Mn	Raiz	468 aA	272 bB	382 aA	325 bB	411 bB	0,25 bA
	Rizoma	294 bB	443 aA	320 bB	478 aA	580 aA	0,17 cB
	Folha	121 cA	116 cA	160 cA	133 cA	130 cA	0,32 aA
Zn	Raiz	81,1 bA	39,2 bA	28,7 aB	34,1 bA	27,8 cB	27,96 bB
	Rizoma	190 aA	186 aA	135 bB	190 aA	219 aA	210 aB
	Folha	25,2 cA	32,3 cA	29,3 cA	25,0 cA	33,3 bB	26,3 bA
Fe	Raiz	435 bA	408 cB	413 cB	486 bA	431 bA	447 bA
	Rizoma	474 aA	474 aA	430 aB	501 aA	522 aA	495 aA
	Folha	419 cB	431 bA	427 bA	368 cB	402 cB	424 cB

Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Scott- Knott, a 5% de significância.

A alocação do N para os três órgãos analisados deu-se da seguinte forma: nas duas menores concentrações de 0,75 e 1,5 µM de Pb o N foi alocado em maior quantidade nos rizomas do que nas folhas e as raízes apresentaram menores quantidades do elemento (Tabela 2). Nas maiores concentrações de Pb, o N foi alocado em maior quantidade nas folhas do que nas raízes, e os rizomas apresentaram menores quantidades do elemento (Tabela 2). Analisando o N em cada órgão em função das diferentes concentrações de Pb, observa-se que, para as raízes, não houve modificações significativas do teor de N em função do

aumento da concentração de Pb (Tabela 2). Em relação ao rizoma nas maiores concentrações houve uma queda do teor de N, contudo, nas folhas, o teor de N aumentou nas maiores concentrações de Pb (Tabela 2).

O chumbo pode provocar alterações prejudiciais na nutrição mineral de plantas (BRUNET et al., 2008). Esse elemento pode induzir modificações na nutrição mineral devido ao bloqueio da absorção de diversos íons pela raiz, diminuição nos processos de translocação e competição dos mesmos. O Pb provoca um bloqueio físico que diminui o acesso de vários íons nos locais de absorção da raiz, bloqueando a entrada de cátions como o K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} e o Fe^{2+} e ânions (NO_3^-) (POURRUT et al., 2011).

O N é um dos elementos mais importantes para o metabolismo do vegetal sendo constituinte de aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos, enzimas e coenzimas além desses, é um importante componente das moléculas de clorofila. Atua nos processos de absorção iônica, fotossíntese, respiração, na multiplicação e diferenciação celular (MALAVOLTA, 2006; BARKER; PILBEAN, 2006). A deficiência de N pode restringir o crescimento de todos os órgãos da planta, principalmente os órgãos vegetativos. Portanto, os resultados sugerem que o aumento do teor de N nas folhas em função do aumento da concentração de Pb pode ter contribuído para manutenção do conteúdo de clorofila e da taxa fotossintética, permitindo a manutenção do crescimento das plantas de *E. grandiflorus* sendo um dos seus mecanismos de tolerância.

A alocação do fósforo (P) em todas as concentrações de Pb foi em maior quantidade nas folhas do que nas raízes, essas, por sua vez, apresentaram maior quantidade do que os rizomas (Tabela 2). O teor de P em cada órgão em relação às concentrações crescentes de Pb não apresentou modificações significativas (Tabela 2). Assim como o N, o P é constituinte de importantes moléculas do metabolismo básico dos vegetais como ATP e ADP (trifosfato e difosfato de adenosina) importantes moléculas para as relações energéticas celulares, o

NADP (nicotinamida adenina dinucleotídeo trifosfato) e sua forma reduzida (NADPH) são moléculas que armazenam e transferem energia nos processos metabólicos nas células inclusive, sendo o NADPH a principal molécula que serve como poder redutor nos processos fotossintéticos.

Também é componente de ácidos nucleicos, nucleotídeos e fosfolipídios (MALAVOLTA, 2006; BARKER; PILBEAN, 2006). Portanto, um dos mecanismos que podem ter permitido a manutenção da taxa fotossintética. Dessa forma, o teor de P não sofreu alterações em cada órgão em função do aumento da concentração de Pb e isso pode também estar relacionado a um mecanismo de manutenção da maquinaria energética dos processos fotossintéticos sob concentrações mais elevadas de chumbo, denotando mais uma característica de tolerância da espécie.

O K foi alocado em maior quantidade nas raízes do que nas folhas, estas maiores do que nos rizomas (Tabela 2). Contudo, o teor de K em cada órgão, em função das crescentes concentrações de Pb, não apresentou modificações significativas (Tabela 2). Os canais de K^+ atuam em particular nas células-guarda no mecanismo de abertura e fechamento dos estômatos, além disso, também atuam na síntese de polipeptídios nos ribossomos. A deficiência de K leva restrição do crescimento em plantas (MALAVOLTA, 2006; BARKER; PILBEAN, 2006) isso pode se relacionar com a restrição do controle da condutância estomática que limita a captação de CO_2 . Portanto, como não ocorreram modificações significativas na condutância estomática de *E. grandiflorus*, parte do mecanismo de tolerância dessa espécie pode se relacionar com a manutenção do fluxo de CO_2 para o interior das folhas, auxiliando na manutenção da fotossíntese.

Com o aumento das concentrações de Pb, a alocação do magnésio (Mg) nas raízes, rizomas e folhas apresentaram valores próximos ao controle (Tabela 2). Na concentração de 6 μM o teor de Mg foi maior nas raízes e folhas do que

nos rizomas. O teor de Mg, em cada órgão analisado em função das crescentes concentrações de Pb, mostra que nas raízes houve um aumento do teor de Mg nas três maiores concentrações (Tabela 2). De forma semelhante, nas folhas houve um aumento na concentração de 1,5 μM contudo, reduziu-se nas três maiores concentrações. O teor desse elemento nos rizomas foi reduzido nas duas maiores concentrações. O Mg é componente da clorofila, cofator de vários processos enzimáticos associados com fosforilação, desfosforilação e hidrólise de vários compostos (MALAVOLTA, 2006). Tudo isso faz desse elemento um importante componente celular. A maior concentração desse elemento nas folhas é uma resposta comum devido à necessidade da síntese de clorofila. Apesar da redução nas maiores concentrações, não houve redução no teor de clorofila de *E. grandiflorus* e isso pode ter ocorrido devido à redução não ser significativa para limitar a produção de clorofila. Apesar da redução, o teor de clorofila ainda foi maior nas folhas comparados aos demais órgãos nas maiores concentrações de Pb, mostrando que não ocorreu restrição significativa na disponibilidade desse elemento, sendo uma característica de tolerância de *E. grandiflorus* que auxilia na manutenção da fotossíntese e crescimento.

A concentração de enxofre (S) foi sempre maior nas raízes do que nos rizomas, e os rizomas em maior valores quando que nas folhas independente da concentração de Pb (Tabela 2). Nas folhas, as diferentes concentrações de Pb não promoveram modificações significativas, contudo, nas raízes e rizomas a concentração do elemento reduziu nas maiores concentrações, sendo que ocorreram pequenas variações nas concentrações mais baixas de Pb (Tabela 2).

A absorção e assimilação de S e N são relacionadas à maior proporção de enxofre de cisteína e metionina além de proteínas. Contudo, as plantas possuem uma série de compostos orgânicos sulfurosos. Em destaque a glutatona, um tripeptídio que tem como precursor a cisteína (MALAVOLTA, 2006). A Glutaciona está envolvida em processos que protegem as plantas contra

estresses ambientais tais como a seca, herbicidas, baixas temperaturas, radiação UV e metais pesados. Esse composto atua suprimindo a formação de espécies reativas de oxigênio evitando assim danos oxidativo nas plantas (ANJUM et al., 2012). Portanto, *E. grandiflorus* pode ter aumentado a alocação de S nas raízes e rizomas para evitar os danos causados pelo estresse oxidativo promovido pelo Pb que se acumulou mais nesses órgãos. Além disso, a manutenção do teor de S nas folhas, independente da concentração de Pb, pode ser importante na manutenção da fotossíntese, pois esse composto faz parte de algumas moléculas da cadeia de transporte de elétrons nos fotossistemas.

O cobre (Cu) foi alocado em maior quantidade nos rizomas do que nas raízes, e folhas demonstraram menor concentração do elemento independente da concentração de Pb (Tabela 3). Para três órgãos analisados em função das crescentes concentrações de Pb não houve diferença significativa no teor de Cu. O Cu é um elemento de transição que possui alta atividade redox, e devido a essa propriedade, sua toxicidade pode induzir danos oxidativos; interferindo em processos como a síntese de pigmentos, fotossíntese, respiração, regulação hormonal e fixação do nitrogênio e no metabolismo de compostos secundários (MALAVOLTA, 2006; PENG; KRONECK; KUPPER, 2013). Contudo, em baixas concentrações pode ser um importante cofator de enzimas e parte de enzimas do sistema antioxidante como dismutase do superóxido. Dessa forma, a maior alocação desse elemento nas raízes e rizomas pode ser uma característica importante para a tolerância de *E. grandiflorus* pois pode permitir o adequado funcionamento de enzimas que atuam na remoção de espécies reativas de oxigênio produzidas pelo Pb, que se acumulou em maior quantidade nesses órgãos.

O Manganês (Mn) foi alocado em maior quantidade nos rizomas, seguidos das raízes e as folhas demonstraram as menores concentrações do elemento independente da concentração de Pb (Tabela 3). Comparando os teores

de Mn nas raízes e folhas, em função das crescentes concentrações de Pb, não houve modificações na concentração de Mn em cada órgão (Tabela 3), contudo, os rizomas apresentaram um aumento dos teores de Mn, em função da concentração de Pb (Tabela 3). O Mn é importante como cofator de várias enzimas do metabolismo básico dos vegetais (MALAVOLTA, 2006). A maior alocação desse elemento nos rizomas e raízes pode ser um fator de tolerância em função do seu papel no metabolismo e na tolerância ao Pb que se acumulou mais nesses órgãos. Além disso, a manutenção da concentração do elemento nas folhas pode ter auxiliado em manter as taxas fotossintéticas, contribuindo para a tolerância de *E. grandiflorus*.

O Zinco (Zn) foi alocado em maior quantidade nos rizomas do que nas raízes e as menores concentrações do elemento foram encontradas nas folhas independente da concentração de Pb (Tabela 3). Nas raízes e rizomas, o teor de Zn diminuiu em função do aumento nas concentrações de Pb contudo, nas folhas o teor de Zn não apresentou modificações em função do Pb (Tabela 3). O Zn é o cofator de várias enzimas envolvidas na fotossíntese, na respiração e biossíntese de vários hormônios (BROADLEY et al., 2007). Além disso, é parte componente de enzimas do sistema antioxidante como a dismutase do íon superóxido. Dessa forma, parte da tolerância de *E. grandiflorus* pode ser atribuída para manter os níveis de Zn nas folhas e principalmente aumentar a alocação do elemento nas raízes e rizomas para combater os efeitos tóxicos do Pb.

O Ferro (Fe) foi alocado em maior concentração nos rizomas do que nas raízes e as folhas demonstraram os menores teores desse elemento (Tabela 3). As raízes e rizomas não apresentaram modificações do teor de Fe, contudo, as folhas apresentaram redução do teor de Fe, em função do aumento do Pb na solução (Tabela 3). O Fe é componente importante de muitas proteínas, inclusive algumas presentes na cadeia de transporte de elétrons nos cloroplastos

(MALAVOLTA, 2006). Esse elemento pode atuar como intermediário em reações de oxirredução e pode ser importante na tolerância a espécies reativas de oxigênio. Dessa forma, a maior concentração de Fe nas raízes e rizomas pode ter relação com a tolerância aos efeitos tóxicos do Pb e, apesar da redução do seu teor nas folhas, esse elemento ainda foi alocado em concentrações suficientes para não prejudicar a fotossíntese.

O cálcio (Ca) foi o único elemento em que não ocorreu interação entre o órgão e a concentração de Pb na solução. Dessa forma, o teor de cálcio total nas plantas de *E. grandiflorus* apresentou um aumento linear conforme aumento das concentrações de Pb, independente do órgão avaliado (Figura 3A). Comparando-se os diferentes órgãos, as folhas apresentaram maior teor de Ca do que as raízes e rizomas independentemente da concentração de Pb avaliada (Figura 3B). O Ca é um dos principais nutrientes das plantas e possui diferentes funções nas plantas, participa da estrutura e funcionamento das membranas, da formação das paredes celulares, é cofator de várias enzimas e atua na absorção iônica de outros elementos (MALAVOLTA, 2006; BARKER; PILBEAN, 2006).

O Ca tem sido reportado atuando como um atenuante de efeitos tóxicos nos mecanismos na desintoxicação contra metais pesados (FRANCESCHI; NAKATA, 2005). Portanto, um dos mecanismos de tolerância de *E. grandiflorus* pode se relacionar ao acúmulo de Ca nos diferentes órgãos, de forma proporcional ao aumento da concentração de Pb. A maior alocação desse elemento nas folhas pode, ainda ter sido um fator importante para manter a fotossíntese e o crescimento da espécie durante a sua exposição ao Pb.

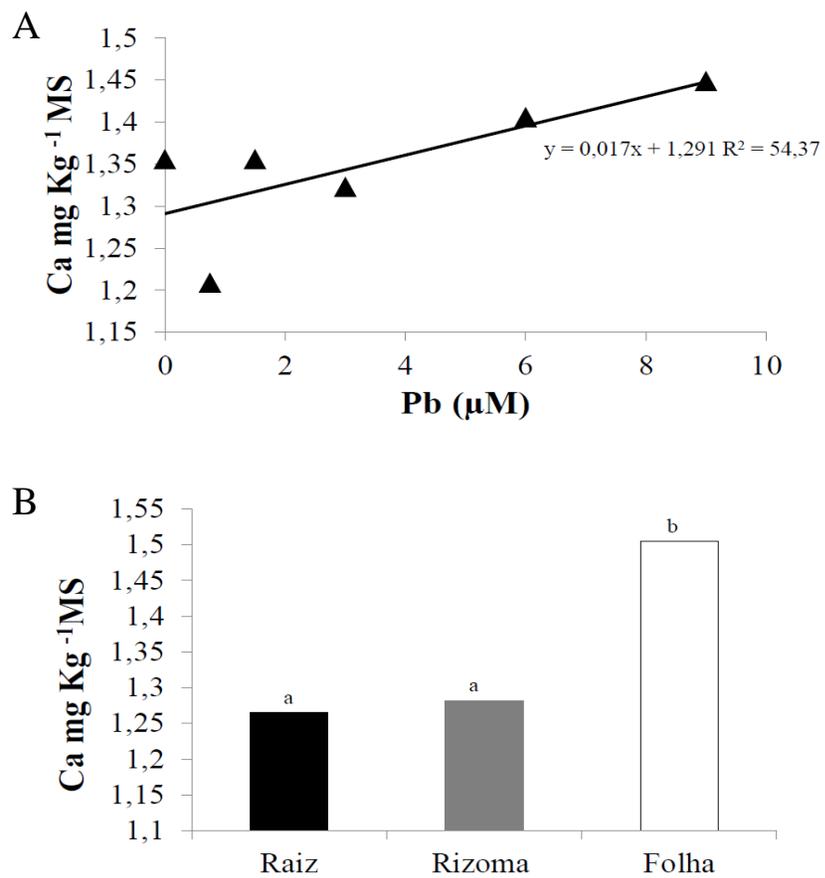


Figura 3 Teor de cálcio em órgãos vegetativos de *E. grandiflorus* expostas a diferentes concentrações de Pb. A= Ca total na planta; B= alocação do Ca nos diferentes órgãos

4.5 Anatomia de *E. grandiflorus* exposta ao chumbo

As folhas são anfiestomáticas, a epiderme é unisseriada em ambas as faces na região do limbo foliar, a cutícula está presente mas é bastante delgada (Figura 4). O mesofilo é dorsiventral, com parênquima paliçádico formado por duas a três camadas de células voltadas para a superfície adaxial. O parênquima esponjoso apresenta cerca de cinco camadas de células com espaços intercelulares de diferentes tamanhos espalhados aleatoriamente, contudo, não se observa aerênquima na região do mesofilo (Figura 4). Os feixes vasculares são colaterais espalhados ao longo de todo o mesofilo, a bainha do feixe é evidente e observam-se fibras voltadas para ambas as faces da folha nos feixes de maior calibre (Figura 4). Ocorrem canais secretores espalhados ao longo de todo o mesofilo, sendo formados por um epitélio unisseriado e um grande lume (Figura 4). Não se observam sinais de toxicidade do Pb em nenhum dos tecidos do limbo foliar, sem necrose, deformações ou modificação no conteúdo celular evidente (Figura 4).

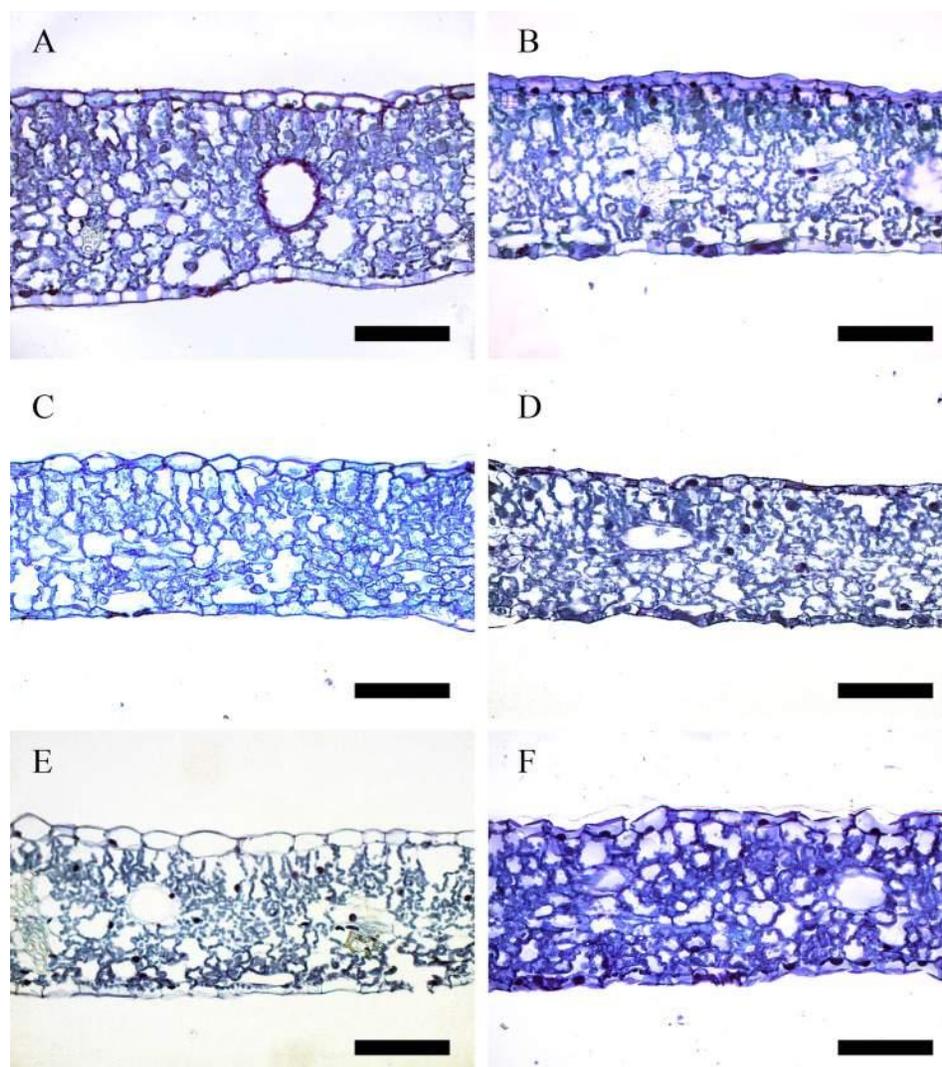


Figura 4 Secções transversais do limbo foliar de *E. grandiflorus*, sob diferentes concentrações de chumbo. A= controle (0); B= 0,75; C= 1,5; D= 3,0; E= 6,0 e F= 9,0 μM de Pb. Barras= 100 μm

As diferentes concentrações de chumbo promoveram modificações nas características foliares em *E. grandiflorus*. Houve redução na espessura da epiderme da face adaxial apenas nas concentrações de Pb maiores que 1,5 μM , tendendo a um pequeno aumento nas menores concentrações (Figura 5A). Contudo, a espessura da epiderme da face abaxial foi reduzida proporcionalmente ao aumento da concentração de Pb (Figura 5B). A espessura dos parênquimas paliádico e esponjoso foram reduzidas em função do aumento da concentração de Pb na solução (Figuras 5C e 5D respectivamente). A espessura do mesofilo também foi reduzida proporcionalmente ao aumento da concentração de Pb na solução (Figura 5E e Figura 4A-F).

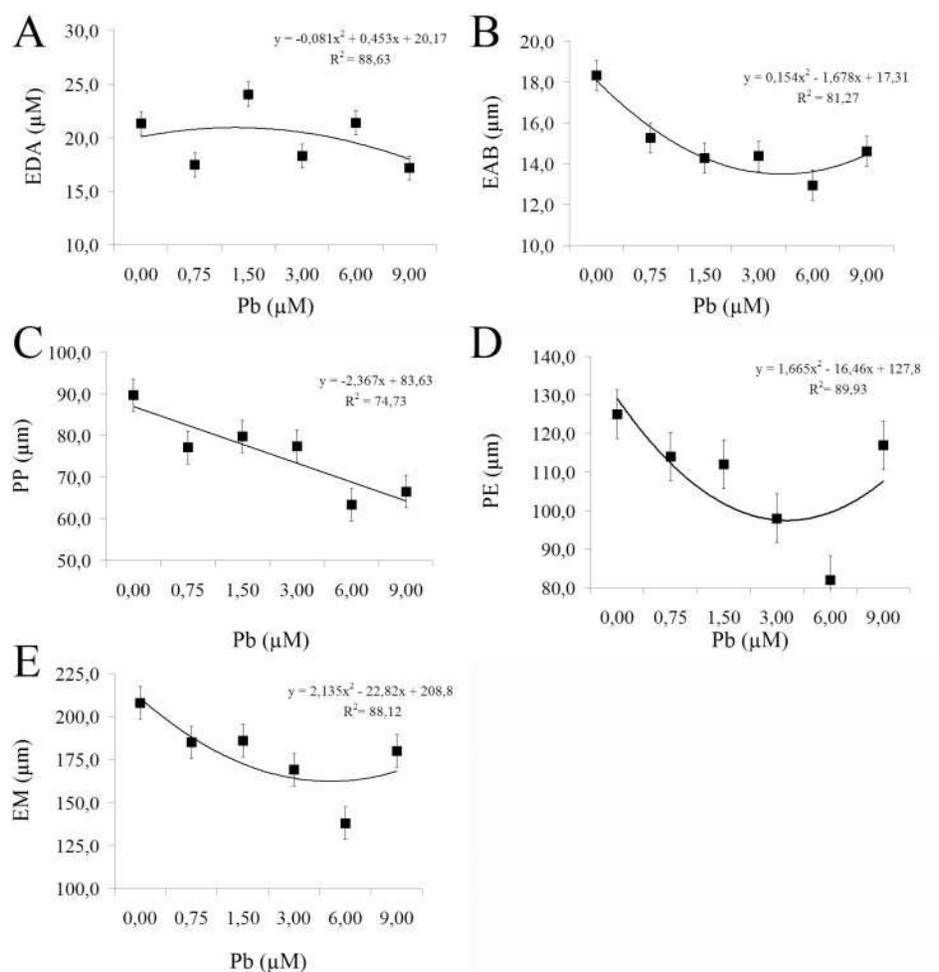


Figura 5 Características anatômicas foliares, em secção transversal, de plantas de *E. grandiflorus*, submetida à diferentes concentrações de chumbo. EAD = epiderme face adaxial, EAB = epiderme face abaxial, PP = parênquima paliçádico, PE = parênquima esponjoso e EM = espessura do mesofilo. Barras equivalem ao erro padrão

O Pb pode causar diminuição da espessura do mesofilo em algumas espécies de plantas, como observado por Alves et al. (2014) em plantas *Oxicaryum cubense*, além da redução nos tecidos foliares ser uma resposta comum em plantas expostas ao Pb (PEREIRA et al., 2013b) e a outros metais

como o cádmio (MARQUES et al., 2011). A redução na espessura do mesofilo pode estar relacionada diretamente com a redução observada dos parênquimas paliádico e esponjoso. Essa é uma resposta comumente relatada e, apesar dessa redução observada nos tecidos fotossintéticos, a diminuição em espessura pode não ter sido significativa para reduzir a taxa fotossintética. Plantas tolerantes podem exibir redução na espessura da epiderme e do parênquima clorofiliano e ainda assim manter o crescimento, como observado para plantas de *Schinus molle* (PEREIRA et al., 2013b). Dessa forma, a redução observada nos tecidos foliares não parece ter prejudicado a fisiologia e crescimento de *E. grandiflorus*, denotando uma característica de tolerância.

A nervura central de *E. grandiflorus* possui epiderme unisseriada, duas a quatro camadas de parênquima fundamental localizadas abaixo da epiderme, no entorno de toda a estrutura (Figura 6). Observam-se feixes vasculares colaterais com floema voltado para a face abaxial e xilema para a face adaxial, ocorre um grande feixe no centro da nervura central das folhas e feixes menores voltados para a face adaxial e para a face abaxial (Figura 6). Ao longo do parênquima fundamental, ocorrem canais secretores e grandes espaços intercelulares constituindo aerênquima (Figura 6). Não se observam sinais de toxicidade do Pb nos tecidos da nervura central de *E. grandiflorus* sem evidência de necrose (Figura 6).

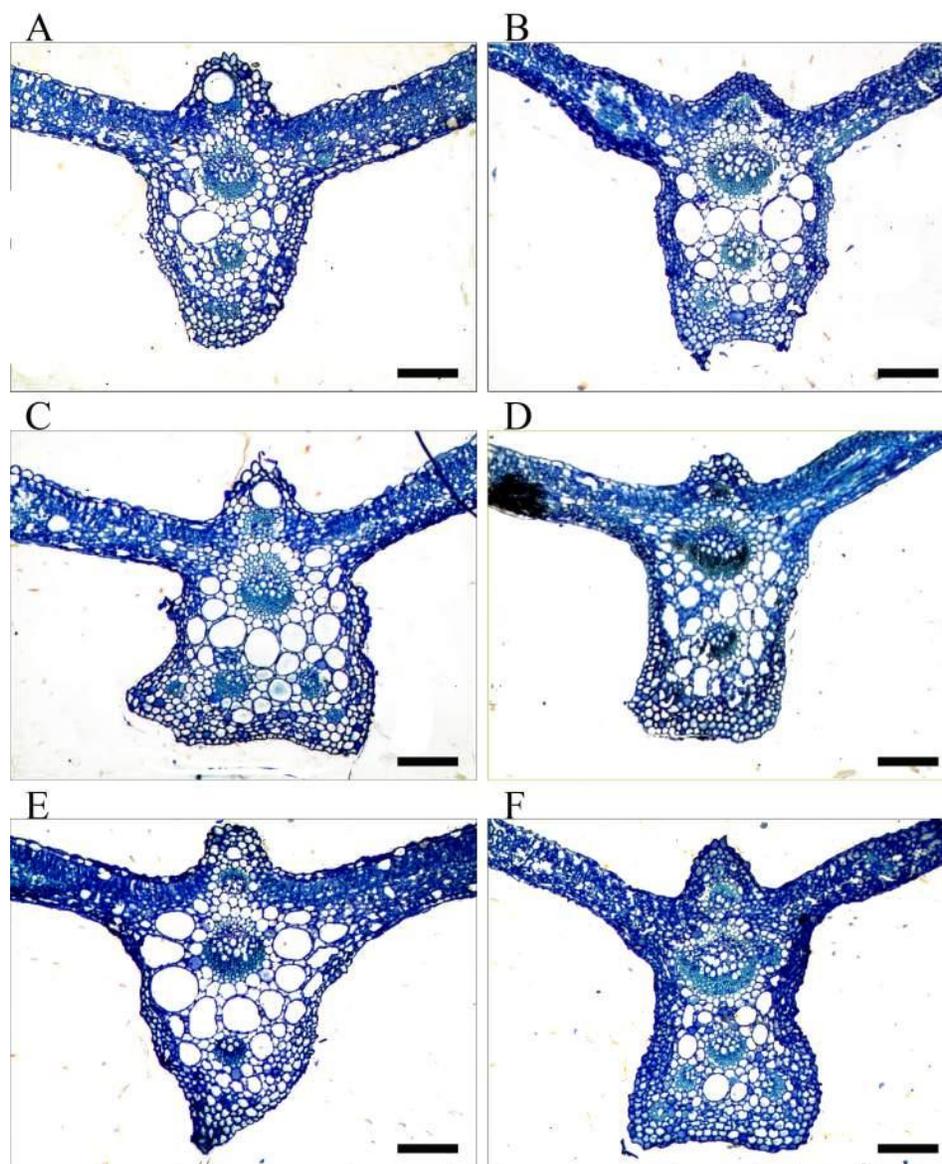


Figura 6 Secções transversais da nervura central de *E. grandiflorus* sob diferentes concentrações de chumbo. A= controle (0); B= 0,75; C= 1,5; D= 3,0; E= 6,0 e F= 9,0 μM de Pb. Barras= 200 μm

Os feixes vasculares da nervura central de *E. grandiflorus* foram modificados pelo Pb. Ocorreu um aumento no diâmetro dos elementos de vaso do xilema à medida que se observa um aumento da concentração de Pb (Figura 7A). A proporção do xilema nos feixes vasculares também aumentou em função do aumento na concentração de Pb até a concentração de 3,0 μM , contudo, reduziu nas maiores concentrações para valores próximos ao controle (Figura 7B). Em função do aumento na proporção de xilema nos feixes vasculares, observa-se uma redução na proporção de floema (Figura 7C) e de fibras (Figura 7D) nos feixes vasculares da nervura central das folhas de *E. grandiflorus*. Contudo, a proporção da bainha dos feixes vasculares aumentou em função do aumento da concentração de Pb nos feixes vasculares da nervura central em folhas de *E. grandiflorus* (Figura 7E).

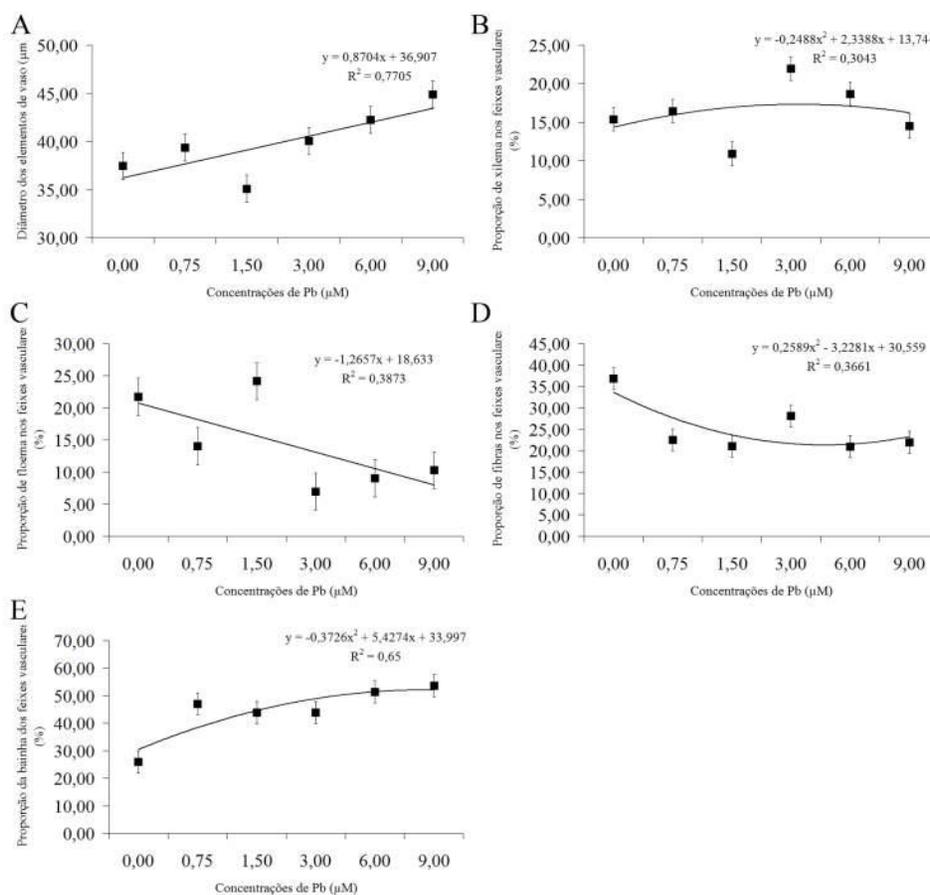


Figura 7 Características quantitativas dos tecidos dos feixes vasculares da nervura central das folhas de *E. grandiflorus*, sob diferentes concentrações de chumbo. As barras equivalem ao erro padrão

Modificações nos tecidos vasculares foliares em função da presença de metais pesados é bastante comum. Em plantas tolerantes como *Schinus molle*, observa-se uma melhoria nos tecidos vasculares das folhas, em função da presença de chumbo (PEREIRA et al., 2013b). Maior proporção de tecidos vasculares nas folhas também são relatadas por Vaculík et al. (2012) para plantas de *Salix caprea*. Maiores diâmetros do vaso de xilema atribuem maior capacidade de condução ao xilema (ZACH et al., 2010), além disso, maior

proporção desse tecido permite maior capacidade de condução de água e nutrientes, sendo essas as suas funções básicas. Por outro lado, a redução observada para a proporção de floema e fibras pode se relacionar com a maior demanda de xilema por essas plantas sendo que, para aumentar a proporção do xilema, uma redução nos demais tecidos se fez necessária não sendo um efeito da toxicidade do Pb. A endoderme é uma importante barreira apolástica em raízes, reduzindo o fluxo apoplástico de água e filtrando parte do que chega ao xilema no cilindro vascular e, nas folhas, a bainha do feixe pode ser considerada uma endoderme (CASTRO; PEREIRA; PAIVA, 2009).

O aumento observado na bainha do feixe de plantas de *E. grandiflorus* pode ser relacionado com a restrição do fluxo de Pb do xilema nos feixes vasculares para as células do parênquima clorofiliano no mesofilo, protegendo as mesmas dos efeitos tóxicos do Pb e auxiliando na manutenção da fotossíntese. Como essas células são parenquimáticas, essas podem estar acumulando o Pb, pois células de parênquima podem atuar compartimentalizando o Pb em seus vacúolos ou paredes celulares (RASCIO; NAVARI-IZZO, 2011). Dessa forma, a maior proporção e diâmetro dos elementos de vaso do xilema podem ser um importante fator de tolerância para as plantas, pois podem permitir o fluxo de água e nutrientes de forma constante e em volumes adequados. Isso se relaciona com as maiores taxas de transpiração observadas nas menores concentrações de Pb em *E. grandiflorus* e pode ter auxiliado na manutenção de altos teores de N, P, S, Mg e Ca observados nas folhas. Esse aumento é acompanhado pela redução nos demais tecidos do feixe vascular e um aumento na bainha para restringir o fluxo de Pb para os tecidos fotossintéticos. Todas essas características são importantes como fatores de tolerância de *E. grandiflorus*.

As raízes de *E. grandiflorus* em secção transversal são constituídas de uma epiderme unisseriada com células aproximadamente tabulares (Figura 8). O córtex é formado por três regiões distintas sendo: córtex externo, mediano e

interno. O córtex externo é composto pela exoderme, formada por uma faixa com uma a três camadas de células com parede espessa (Figura 8). O Córtex mediano é formado por aerênquima composto por grandes câmaras separadas por faixas (trabéculas) de células (Figura 8). O córtex interno é formado por células parenquimáticas organizadas radialmente, possuindo uma endoderme unisseriada na parte mais interna (Figura 8). O cilindro vascular é poliarco com polos de protoxilema intercalados com o floema, sendo envolvidos por um periciclo parenquimático (Figuras 8 e 9). Os tecidos radiculares não demonstraram sinais de necrose, desestruturação ou modificação no conteúdo celular, em função da presença de chumbo (Figuras 8 e 9).

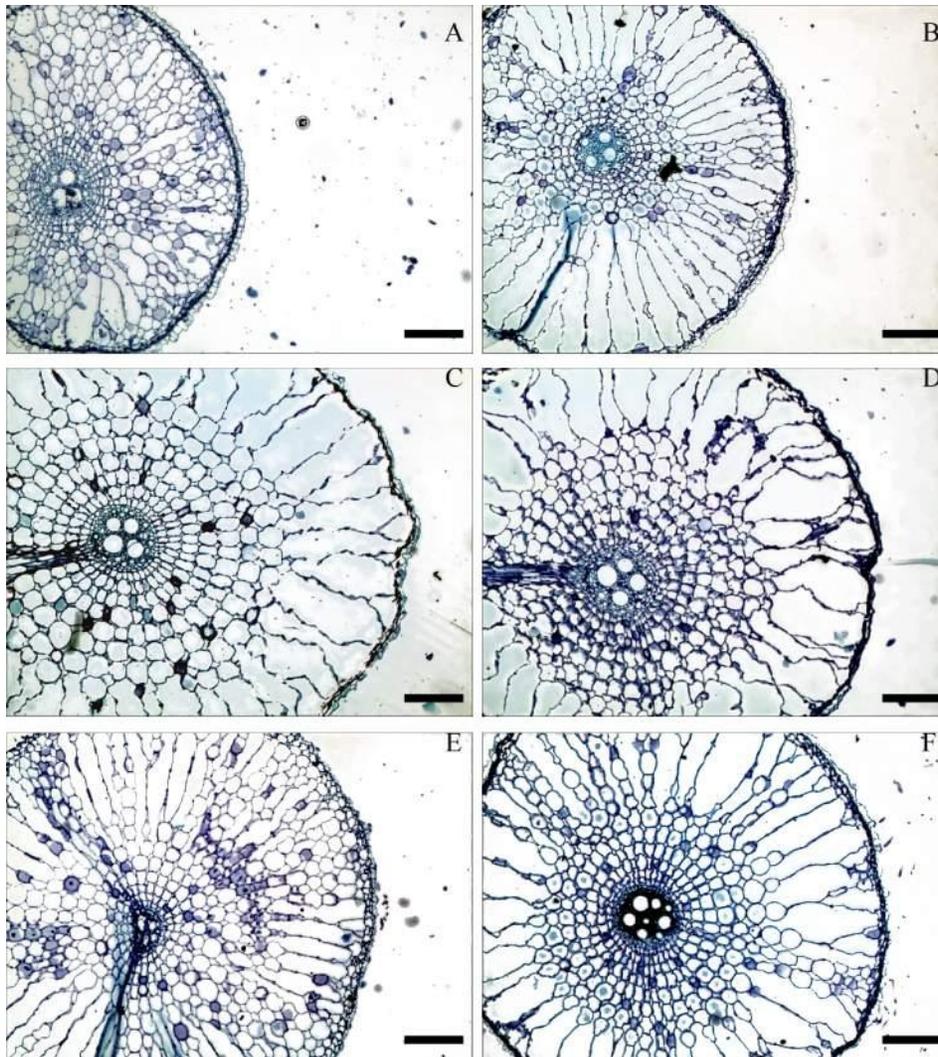


Figura 8 Secções transversais da raiz de *E. grandiflorus*, sob diferentes concentrações de chumbo. A= controle (0); B= 0,75; C= 1,5; D= 3,0; E= 6,0 e F= 9,0 μM de Pb. Barras= 200 μm

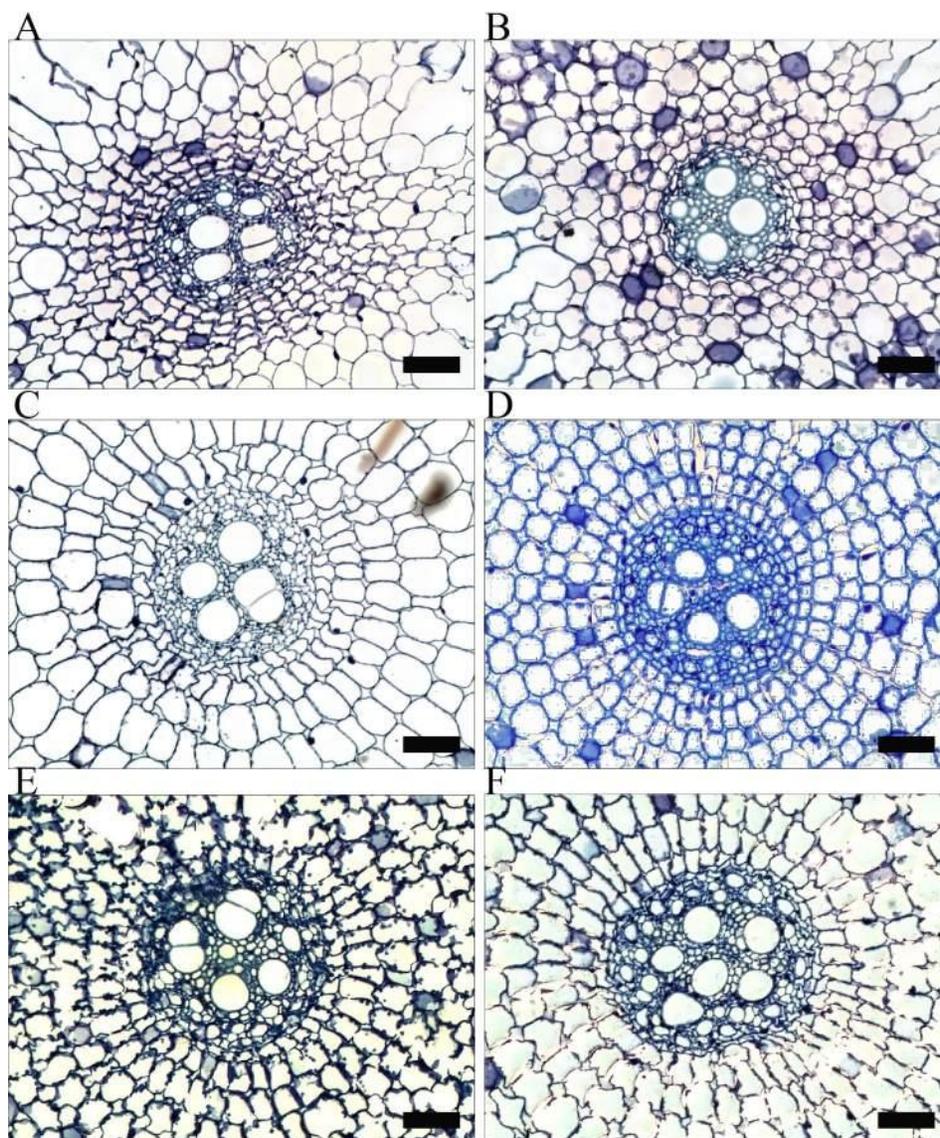


Figura 9 Secções transversais do cilindro vascular de raízes de *E. grandiflorus*, sob diferentes concentrações de chumbo. A= controle (0); B= 0,75; C= 1,5; D= 3,0; E= 6,0 e F= 9,0 μM de Pb. Nota: Barras= 50 μm

O Pb promoveu modificações significativas na estruturas das raízes de *E. grandiflorus*. As partes mais externas da raiz sofreram redução, em função do aumento da concentração de Pb, observando-se uma queda proporcional na espessura da epiderme (Figura 10A) e da exoderme (10B), com o aumento da concentração do elemento. Contudo, o córtex aumentou sua espessura, à medida que as plantas foram expostas a maiores concentrações de Pb (Figura 10C), chegando a aumentar cerca de 50% sua espessura nas maiores concentrações (Figura 10C e 10A-F). A endoderme também demonstrou aumento proporcional à concentração de Pb na solução (Figura 10D e 9).

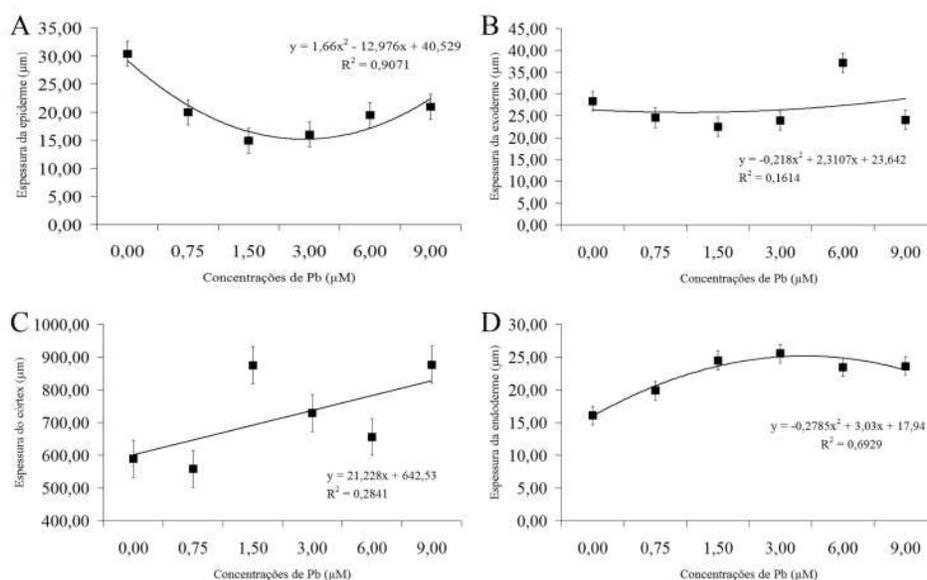


Figura 10 Modificações nas barreiras apoplásticas das raízes de *E. grandiflorus*, sob diferentes concentrações de chumbo. As barras equivalem ao erro padrão

A epiderme é o primeiro tecido das raízes que entra em contato com a solução contaminada pelo Pb. A resposta desse tecido nas plantas pode variar podendo aumentar em algumas plantas (PEREIRA et al., 2013b) ou pode ainda reduzir em função de ser o primeiro tecido a entrar em contato com o poluente ou pode, dependendo do ambiente reduzir e ser substituída pela exoderme (SCHREIBER et al., 1999).

Várias características radiculares regulam a condutividade hidráulica das raízes envolvendo as suas diferentes regiões e tecidos, sendo a espessura do córtex um importante limitante do fluxo de água em raízes (RIEGER; LITVIN, 1999). As principais barreiras apolásticas em raízes são, tradicionalmente, consideradas a exoderme e endoderme, sendo a última o principal limitante do fluxo de poluentes da parte externa das raízes para o cilindro vascular, fazendo as substâncias acumularem-se no córtex radicular (PETERSON; EMANUEL; HUMPHREYS, 1981; CASTRO; PEREIRA; PAIVA, 2009).

Em plantas submetidas ao Pb, observa-se um espessamento da endoderme (PEREIRA et al. 2013a; PEREIRA et al., 2013b). Dessa forma, o aumento no córtex e na endoderme, observado nas plantas de *E. grandiflorus*, pode ser relacionado à restrição no fluxo de contaminante da solução para o cilindro vascular das raízes, diminuindo o fluxo desse poluente para a parte aérea das plantas e reduzindo seus efeitos tóxicos. Esse é um mecanismo comum em plantas submetidas ao Pb onde se observa uma maior restrição desse poluente nas raízes como uma forma de tolerar sua toxicidade (SHARMA; DUBEY, 2005) e o mesmo pode ser observado para muitas outras plantas submetidas a diferentes metais tóxicos (KRÄMER, 2010).

Dessa forma, o espessamento da endoderme e do córtex de plantas de *E. grandiflorus* pode ser considerado como os principais mecanismos que promoveram o acúmulo do Pb no sistema radicular dessas plantas, sendo esse, importante mecanismo para impedir que esse poluente contaminasse os tecidos

fotossintéticos das folhas e mantivesse a fotossíntese e o crescimento das plantas.

Os tecidos vasculares foram modificados pelas concentrações de Pb no cilindro vascular de *E. grandiflorus*. Observa-se uma redução na proporção de xilema no cilindro vascular, em função do aumento na concentração de Pb na solução (Figura 11A). Contudo, houve um aumento na proporção do floema com o aumento das concentrações de Pb na solução (Figura 11B). Apesar da redução na proporção do xilema no cilindro vascular, observa-se um aumento na proporção em área ocupada pelos elementos de vaso no cilindro vascular (Figura 11C) e na área ocupada pelo xilema (Figura 11D) nas menores concentrações de Pb, contudo, observa-se uma queda a partir da concentração de 1,5 μM (Figura 11C e 11D).

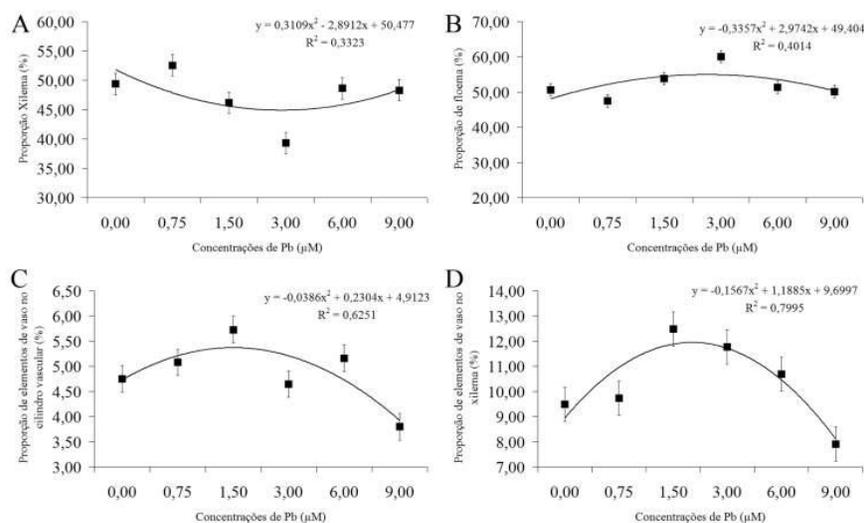


Figura 11 Modificações na proporção de tecidos vasculares no cilindro vascular das raízes de *E. grandiflorus*, sob diferentes concentrações de chumbo. A – Proporção de Xilema, B – Proporção de Floema, C – Proporção de elemento de vaso no cilindro vascular e D- Proporção de elemento de vaso no xilema. As barras equivalem ao erro padrão

As modificações observadas nos tecidos vasculares nas raízes de *E. grandiflorus* podem ser importantes mecanismos de compensação e tolerância ao Pb, pela espécie. O floema é um dos principais tecidos para a manutenção do crescimento radicular, pois transporta fotoassimilados para as regiões meristemáticas da raiz permitindo a proliferação celular e o crescimento das raízes (CASTRO; PEREIRA; PAIVA, 2009). Em condições de exposição ao Pb, a atividade dos meristemas radiculares tende a diminuir em plantas não tolerantes (PEREIRA et al., 2013a), podendo demonstrar várias injúrias estruturais (JIANG; LIU, 2010). Dessa forma, o aumento na proporção de floema no cilindro vascular das raízes de *E. grandiflorus* pode ser um importante mecanismo de defesa ao Pb, permitindo a manutenção do crescimento radicular observada que associa-se com a maior captação de nutrientes e manutenção da fotossíntese e crescimento, além do alongamento do córtex para a alocação do poluente.

Em função do aumento na proporção do floema, houve uma redução na proporção de xilema no cilindro vascular das raízes. Apesar dessa redução na proporção de xilema, observou-se um aumento na proporção de elementos de vaso na área ocupada pelo xilema, e no cilindro vascular como um todo nas menores concentrações de Pb. Essa pode ser uma forma de compensação pois os elementos de vaso são as principais células condutoras de água e nutrientes em angiospermas (CASTRO; PEREIRA; PAIVA, 2009), sendo que o seu aumento pode ser relacionado a uma maior capacidade de condução na área ocupada pelo xilema e à manutenção do fluxo de água e nutrientes para a parte aérea das plantas. Modificações no xilema são frequentemente relatadas para plantas expostas ao Pb (PEREIRA et al., 2013a; PEREIRA et al., 2013b) e a manutenção da capacidade de condução desse tecido pode ser essencial para a tolerância das espécies. Dessa forma, as modificações observadas no xilema

radicular de *E. grandiflorus* podem ser consideradas como benéficas e parte da tolerância da espécie ao Pb.

5 CONCLUSÃO

As plantas de *Echinodorus grandiflorus* são capazes de acumular chumbo em níveis acima dos considerados tóxicos e esse elemento fica alocado em suas raízes. A espécie é tolerante aos efeitos do chumbo, não demonstrando restrições no seu crescimento ou necrose em seus tecidos radiculares e foliares. A tolerância da espécie decorre da manutenção da fotossíntese e transpiração na presença do Pb, permitindo manter o crescimento e o transporte de água e nutrientes para a parte aérea das plantas. O chumbo modifica a nutrição mineral de *E. grandiflorus*, aumentando o fluxo de Ca em toda a planta e mantendo os níveis de macronutrientes em quantidades adequadas, além de acumular elementos importantes para o sistema antioxidante nos rizomas e raízes como o Zn, Cu e S. A anatomia das folhas de *E. grandiflorus* se modifica na presença de Pb, permitindo melhorias no sistema vascular que aumentam o fluxo de nutrientes e podem restringir o fluxo de Pb, retendo-o na bainha dos feixes. As raízes de *E. grandiflorus* aumentam a endoderme e o córtex na presença de Pb, retendo o elemento nesse órgão, além disso aumenta a proporção de floema no cilindro vascular, permitindo a manutenção do crescimento do sistema radicular da espécie. *Echinodorus grandiflorus* apresenta um bom desempenho ao crescer em locais contaminados por chumbo, podendo ser indicada para programas fitorremediadores. No entanto, são necessários trabalhos de campo que visem avaliar o potencial fitorremediador dessa espécie.

REFERÊNCIAS

- AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DIASE REGISTRY. **Priority list of hazardous substances and diseases registry**. Atlanta: ATSDR, 2013. Disponível em: <<http://www.atsdr.cdc.gov/>>. Acesso em: 20 out. 2013.
- AHMAD, M. S. A. et al. Lead (Pb)-Induced regulation of growth, photosynthesis, and mineral nutrition in maize (*Zea mays* L.) plants at early growth stages. **Biological Trace Element Research**, Clifton, v. 144, n. 1-3, p. 1229–1239, Dec. 2011.
- AHMAD, S. H. et al. Morpho-anatomical responses of *Trigonella foenum-graecum* Linn. to induced cadmium and lead stress. **Journal of Plant Biology**, Amsterdam, v.48, n. 1, p. 64-84, Mar. 2005.
- ALI, H.; KHAN, E.; SAJAD, M. A. Phytoremediation of heavy metals: concepts and applications. **Chemosphere**, Oxford, v. 91, n. 7, p. 869-881, May 2013.
- ALLOAY, B. J. **Heavy metals in soils**. 2.ed. London: Blackie Academic & Professional, 1995.
- ALMEIDA, A. L. F. et al. Investigação dos mecanismos de ação envolvidos no efeito vasodilatador de extrato bruto aquoso de *Echinodorus grandiflorus* em aorta isolada de coelho. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FARMACOLOGIA E TERAPÊUTICA EXPERIMENTAL, 35., 2003, Águas de Lindóia. **Anais...** Águas de Lindóia: Editora da USP, 2003.1 CD-ROM.
- ALVES, J. C. et al. Absorção e distribuição de chumbo em plantas de vetiver, jureminha e algaroba. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, n. 3, p. 1329-1336, maio/jun. 2008.
- ALVES, L. Q. et al. Effects of lead on anatomy, ultrastructure and concentration of nutrients in plants *Oxycaryum cubense* (Poep. & Kunth) Palla: a species with phytoremediator potential in contaminated watersheds. **Environmental Science and Pollution Research**, Landsberg, p. 1-2, Feb. 2014.
- ANDRADE, J. C. M.; TAVARES, S. R. L.; MAHLER, C. F. **Fitorremediação: o uso de plantas na melhoria da qualidade ambiental**. São Paulo: Oficina de Textos, 2007.

ANJUM, N. A. Modulation of glutathione and its related enzymes in plants responses to toxic metals and metalloids: a review. **Environmental Experimental Botany**, Oxford, v. 75, n. 3, p. 307-324, 2012.

BARBOSA-FILHO, J. M. et al. Plants and their active constituents from South, Central, and North America with hypoglycemic activity. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 15, n. 4, p. 392-413, out./dez. 2005.

BARKER, A. V.; PILBEAN, D. J. **Handbook of plant nutrition**. New York: Taylor e Francis, 2006.

BEVILAQUA, G. A. P.; NEDEL, J. L.; ZUANAZZI, J. A. Distribuição geográfica e composição química do chapéu-de-couro (*Echinodorus* spp.) no Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 2, p. 213-218, mar./abr. 2001.

BHATIA, M.; GOYAL, D. Analyzing remediation potential of wastewater through wetland plants: a review. **Environmental Progress & Sustainable Energy**, Amsterdam, v. 33, n. 1, p. 9-27, Apr. 2014.

BONA, C.; BOEGER, M. R., SANTOS, G. O. **Guia ilustrado de anatomia vegetal**. Ribeirão Preto: Holos, 2004.

BOTREL, B. et al. Uso da vegetação nativa pela população local do município de Ingaí, MG, Brasil. **Acta Botanica Brasílica**, Porto Alegre, v. 20, n. 1, p. 143-156, mar. 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Vigisolo**: identificação das populações sob risco de exposição e priorização de áreas com populações expostas a solo contaminado. Brasília: Ministério da Saúde, 2006. Disponível em: <<http://portal.saude.gov.br/portal/saude/gestor/visualizar-texto.cpm?idtxt=23900>>. Acesso em: 10 dez. 2013.

BRASIL. Senado Federal. Resolução nº 430, de 13 de maio de 2011. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes. **Diário Oficial da União**, Brasília, n. 92, p. 89, 2011. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646>>. Acesso em: 10 mar. 2013.

- BRITO, F. A. et al. Inibição por extratos de *Echinodorus grandiflorus* do edema de pata induzido pelo composto 48/80, histamina e serotonina. In: REUNIÃO ANUAL DAFEDERAÇÃO DE SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL, 14., 1999, Caxambu. **Anais...** Lavras: Editora da UFLA, 1999. 1 CD-ROM.
- BROADLEY, M. R. et al. Zinc in plants. **New Phytologist**, Cambridge, v. 173, n. 4, p. 677–702, Mar. 2007.
- BRUNET, J. et al. Lead accumulation in the roots of grass pea (*Lathyrus sativus* L.) a novel plant for phytoremediation systems. **Comptes Rendus Biologies**, Paris, v. 331, n. 11, p. 859-864, Nov. 2008.
- CARDOSO, G. L. C.; PERAIRA, N. A.; LAINETTI, R. Avaliação das atividades antinociceptiva, antiinflamatória e diurética do chapéu-de-couro (*Echinodorus grandiflorus* [Cham. Schl] Mitch., Alismataceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 84, n. 1, p. 5-7, 2003.
- CARDOSO, G. L. C.; PEREIRA, N. A.; LAINETTI, R. Avaliação da atividade do chapéu-de-couro (*Echinodorus grandiflorus* [Cham e Schl] Mitch. Alismataceae) sobre os níveis plasmáticos de colesterol em camundongos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 86, n. 3, p. 95-96, 2005.
- CASTRO, E. M.; PEREIRA, F. J.; PAIVA, R. **Histologia vegetal: estrutura e função de órgãos vegetativos**. Lavras: Editora da UFLA, 2009.
- CELO, V. et al. An assessment of heavy metal pollution in the sediments along the Albanian Coast. **Water, Air and Soil Pollution**, Dordrecht, v. 111, n. 1-4, p. 235-250, Apr. 1999.
- CENKCI, S. et al. Lead contamination reduces chlorophyll biosynthesis and genome template stability in *Brassica rapa* L. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 67, n. 3, p. 467–473, Jan. 2010.
- CHENG, H. et al. Interactions among Fe^{2+} , S^{2+} , and Zn^{2+} tolerance, root anatomy and radial oxygen loss in mangrove plants. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 63, n. 7, p. 2619-2630, Jan. 2012.
- CLEMENS, S. Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanism of tolerance in plants. **Biochimie**, Paris, v. 88, n. 11, p. 1707-1719, Nov. 2006.

DHIR, B.; SHARMILA, P.; SARADHI, P. P. Potential of aquatic macrophytes for removing contaminants from the environment. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, Boca Raton, v. 39, n. 9, p. 754-781, Sept. 2009.

ENVIROMENTAL PROTECTION AGENCY. Disponível em: <<http://www.epa.gov/>>. Acesso em: 15 mar. 2013.

ESTEVES, F. A. **Fundamentos de limnologia**. Rio de Janeiro: Interciência, 1998.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, nov./dez. 2011.

FRANCESCHI, V. R.; NAKATA, P. A. Calcium oxalate in plants: formation and function. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 56, p. 41-71, 2005.

GLICK, B. R. Phytoremediation: synergistic use of plants and bacteria to clean up the environment. **Biotechnology Advances**, New York, v. 21, n. 5, p. 383-393, Aug. 2003.

GRATÃO, P. L. et al. Phytoremediation: green technology for the clean up of toxic metals in the environment. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 17, n. 1, p. 53-64, Jan./Mar. 2005.

GUPTA, D. K. et al. Effect of Hg, As and Pb on biomass production, photosynthetic rate, nutrients uptake and phytochelatin induction in *Pfaffia glomerta*. **Ecotoxicology**, New York, v. 22, n. 9, p. 1403-1412, Nov. 2013.

HANC, A. et al. An analysis of long-distance root to leaf transport of lead in *Pisum sativum* plants by laser ablation-ICP-MS. **International Journal Environmental Analytical Chemistry**, Amsterdam, v. 89.n. 8-12, p. 22-26, June 2009.

HANSEL, M. C. Spatial and temporal association of As and Fe species on aquatic plant roots. **Environmental Science Technology**, Easton, v. 36, n. 9, p. 1998-1994, Mar. 2002.

HAYNES, R. R.; HOLM-NIELSEN, L. B. **The alismataceae**. Oxford: The New York Botanical Garden Press, 1994.

- HERNÁNDEZ, I. et al. How relevant are flavonoids as antioxidants in plants? **Trends Plant Science**, Oxford, v. 14, n. 3, p. 125–132, Mar. 2009.
- HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. **The water-culture method for growing plants without soil**. Berkeley: University of California, 1950.
- HUANG, T. L.; HUANG, T. J. ROS and CDPK-like Kinase-mediated activation of MAP Kinase in rice roots exposed to lead. **Chemosphere**, Oxford, v. 71, n. 7, p. 77-85, Apr. 2008.
- INOUE, H. et al. Properties of lead deposits in cell walls of radish (*Raphanus sativus*) roots. **Journal of Plant Research**, Tokyo, v. 126, n. 1, p. 51-61, Jan. 2013.
- ISLAM, E. et al. Efect of Pb toxicity root morphology, physiology and ultrastructure in the two ecotypes of *Elsholtzia argyi*. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 147, n. 3, p. 806-816, Aug. 2007.
- JADIA, C. D. et al. Phytoremediation of heavy metals: recent techniques. **African Journal of Biotechnology**, Mumbai, v. 8, n. 6, p. 921-928. Mar. 2009.
- JIANG, W.; LIU, D. Pb-induced cellular defense system in the root meristematic cells of *Allium sativum* L. **Plant Biology**, Stuttgart, v. 10, n. 40, p. 1-8, Mar. 2010.
- JIN, Y. et al. Health effects in children aged 3-6 years induced by environmental lead exposure. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 63, n. 2, p. 313-319, Feb. 2006.
- JOAQUIM, W. M. et al. Year season on epicuticular waxes in leaves of *Echinodorus grandiflorus* (Cham & Schltld.) Micheli (Alismataceae). **Naturalia**, Rio Claro, v. 33, n. 3, p. 8-19, 2010.
- KRÄMER, U. Metal hyperaccumulation in plants. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 61, p. 517-534, 2010.
- KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Seropédica: EDUR, 1997.
- KUMAR, A.; PRASAD, M. N.V.; SYTAR, O. Lead toxicity defence strategy and associated indicative biomarkes in *Talium triangulare* grown hydroponica. **Chemosphere**, Oxford, v. 89, n. 9, p. 1056-1065, Nov. 2012.

KUMAR, A.; PRASAD, M. N.V.; SYTAR, O. Lead toxicity defence strategy and associated indicative biomarkers in *Talium triangulare* grown hydroponica. **Chemosphere**, Oxford, v. 89, n. 9, p. 1056-1065, Nov. 2012.

KUMAR, N. P. B. A. et al. Phytoextraction: the use of plants to remove heavy metals from soils. **Environmental Science & Technology**, Washington, v. 29, n. 5, p. 1232-1238, May 1995.

LASAT, M. M. Phytoextraction of toxic metals: a review of biological mechanisms. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 31, p. 109-120, Jan./Feb. 2002.

LEHTONEN, S. An integrative approach to species delimitation in *Echinodorus* (Alismataceae) and description of two new species. **Kew Bulletin**, London, v. 63, n. 4, p. 525-563, Dec. 2008.

LEHTONEN, S. On the origin of *Echinodorus grandiflorus* (Alismataceae) in Florida (*E. floridanus*) and its estimated potential as an invasive species. **Hydrobiologia**, The Hague, v. 635, n. 1, p. 107-112, Nov. 2009.

LEITE, K.R.B.; FRANÇA, F.; SCATENA, V. L. Structural variation among emergent and amphibious species from lakes of the semi-arid region of Bahia, Brazil. **Brasilian Journal of Biology**, São Carlos, v. 72, n. 1, p. 163-169, Feb. 2012.

LESSA, M. A. et al. Antihypertensive effects of crude extracts from leaves of *Echinodorus grandiflorus*. **Fundamental and Clinical Pharmacology**, Paris, v. 22, n. 2, p. 161-168, Mar. 2008.

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas**. 3. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2000.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002.

MACÊDO, J. A. B. **Introdução à química ambiental**. Porto Alegre: Bookman, 2002.

MAGNA, G. A. M. Chumbo e cádmio detectados em alimentos vegetais e gramíneas no município de Santo Amaro- Bahia. **Química Nova**, São Paulo, v. 36, n. 7, p. 989-997, 2013.

MALAVOLTA, E. **Fertilizantes e seu impacto ambiental: micronutrientes e metais pesados: mitos, mistificação e fatos.** São Paulo: Petroquímica, 1994.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas.** São Paulo: Agronômica Ceres, 2006.

MALECKA, A.; PIECHALAK, A.; TOMASZEWSKA, B. Reactive oxygen species production and antioxidative defense system in pea root tissues treated with lead ions: the whole roots level. **Acta Physiologie Plantarum**, London, v. 31, n. 3, p. 1053-1063, Sept. 2009.

MARQUES, T. C. L. L. S. M. et al. Respostas fisiológicas e anatômicas de plantas jovens de eucalipto expostas ao cádmio. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 35, n. 5, p. 997-1006, set./out. 2011.

MATIAS, L. Q. **Alismataceae in lista de espécies da flora do Brasil.** Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2010. Disponível em: <<http://www.floradobrasil.jbrj.gov.br>>. Acesso em: 10 mar. 2013.

MEYERS, D. E. R. et al. Uptake and localization of lead in the root system of *Brassica juncea*. **Environmental Pollution**, Barking, v. 153, n. 2, p. 323-332, May 2008.

MICHALAK, E.; WIERZBICKA, M. Differences in lead tolerance between *Allium cepa* plants developing from seeds and bulbs. **Plant and Soil**, The Hague, v. 199, n. 2, p. 251-260, Feb. 1998.

O'BRIEN, T. P.; FEDER, N.; MCCULLY, M. E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, New York, v. 59, n. 2, p. 368-373, 1990.

OLIVEIRA, C. **Características morfoanatômicas e fisiológicas na avaliação do potencial bioindicador e fitorremediador de *Pistia stratiotes* L. na presença de cádmio, chumbo e arsênio.** 2010. 171 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

OLIVEIRA, D. B. **Fitorremediação: o estado da arte.** Rio de Janeiro: CETEC, 2006.

PAOLIELLO, M. M. B.; CHASIN, A. A. M. **Ecotoxicologia do chumbo e seus compostos.** Salvador: CRA, 2001.

PENG, H.; KRONECK, P. M. H.; KUPPER, H. Toxicity and deficiency of copper in *Elsholtzia Splendens* affect photosynthesis, biophysics, pigments and metal accumulation. **Environmental Science & Tecnology**, Washington, v. 47, n. 12, p. 6120-6128, May 2013.

PEREIRA, F. J. **Características anatômicas e fisiológicas de aguapé e índice de fitorremediação de alface d'água cultivados na presença de arsênio, cádmio e chumbo**. 2010. 116 p. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

PEREIRA, F. J. et al. Mecanismos anatômicos e fisiológicos de plantas de aguapé para a tolerância à contaminação por arsênio. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 29, n. 2, p. 259-267, abr./jun. 2011.

PEREIRA, M. P. et al. Lead tolerance during germination and early growth of the Brazilian peppertree and the morpho-physiological modifications. **Revista de Ciências Agrárias**, Belém, v. 56, supl., p. 72-79, 2013â.

PEREIRA, M. P. et al. Fitotoxicidade do chumbo na germinação e crescimento inicial de alface em função da anatomia radicular e ciclo celular. **Agro@ambiente**, Roraima, v. 7, n. 1, p. 36-43, jan./abr. 2013b.

PETERSON, C. A.; EMANUEL, M. E.; HUMPHREYS, G. B. Pathway of movement of apoplastic fluorescent dye tracers through the endodermis at the site of secondary root formation in corn (*Zea mays*) and broad bean (*Vicia faba*). **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.59, n. 5, p.618-625, 1981.

PILON-SMITS, E. Phytoremediation. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 56, n. 1, p. 15-39, 2005.

POMPÊO, M. L. M.; MOSCHINI-CARLOS, V. **Macrófitas aquáticas e perifíton**: aspectos ecológicos e metodológicos. São Carlos: Rima, 2003.

POTT, J.; POTT, A. **Plantas aquáticas do Pantanal**. Brasília: EMBRAPA, 2000.

POURRUT, B. et al. Lead uptake, toxicity and detoxification in plants. **Review Environmetal Contamination Toxicology**, New York, v. 213, p. 113-136, Jan. 2011.

PROBST, A. et al. Response of *Vicia faba* L. to metal toxicity on mine tailing substrate: geochemical and morphological changes in leaf and root. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 66, n. 2, p. 297-308, May 2009.

PROCÓPIO, S. O. et al. **Fitorremediação de solos com resíduos de herbicidas**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2009.

RASCIO, N.; NAVARI-IZZO, F. Heavy metal hyperaccumulating plants: How and why do they do it? And what makes them so interesting? **Plant Science**, Limerick, v. 180, n. 2, p. 169-181, Feb. 2011.

RIEGER, M.; LITVIN, P. Root system hydraulic conductivity in species with contrasting root anatomy. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 50, n. 331, p. 201–209, 1999.

ROBERTS, A. E.; BOYLEN, C. W.; NIERRZWICKI-BAUER, S. A. Effects of lead accumulation on the *Azolla caroliniana* Anabaena association. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 102, n. 1, p. 100-104, Apr. 2014.

ROMEIRO, S. et al. Lead uptake and potential for fitoremediation of *Canavalia ensiformes* L. **Bragantina**, Campinas, v. 66, n. 2, p.327- 334, 2007.

ROMEIRO, S. et al. Lead uptake and tolerance of *Ricinus communis* L. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Piracicaba, v. 18, n. 4, p. 483-489, Mar. 2006.

SADAO, M. Intoxicação por chumbo. **Revista de Oxidologia**, São Paulo, v. 1, n. 27, p. 37-42, jan./mar. 2002.

SAMARDAKIEWICZ, S. et al. Is callose a barrier for lead ions entering *Lemna minor* L. root cells? **Protoplasma**, New York, v. 249, n. 2, p. 347-351, Apr. 2012.

SARRUGE, J. R.; HAAG, H. P. **Análises químicas em plantas**. Piracicaba: ESALQ, 1974.

SARYAN, L.; ZENZ, A. C. Lead and its compounds. In: ZENZ, C.; DICKERSON, O. B.; HORVATH, E. P. (Ed.). **Occupational medicine**. New York: Editora Mosby-Year Book, 1994. p. 506-541.

SAXENA, P. K. et al. Phytoremediation of heavy metal contaminated and polluted oils. In: PRASAND, M. N.V.; HAGEMEYER, J. (Ed.). **Heavy metal stress in plants: from molecules to ecosystems**. New York: Springer, 1999. p. 305–329.

SCHREIBER, L. et al. Apoplastic barriers in roots: chemical composition of endodermal and hipodermal cell wall. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 50, n. 337, p. 1267-1280, 1999.

SHAHID, M. et al. Review of Pb availability and toxicity to plants in relation with metal speciation; role of synthetic and natural organic ligands. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 15, p. 219-220, June 2012.

SHARMA, P.; DUBEY, R. S. Lead toxicity in plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Piracicaba, v. 17, n. 1, p. 35-52, Mar. 2005.

SHARMA, S. S.; DIETZ, K. J. The relationship between metal toxicity and cellular redox imbalance. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 14, n. 1, p. 43-50, Jan. 2009.

SHEN, Z. G. et al. Lead phytoextraction from contaminated soil with high biomass plant species. **Journal Environmental Quality**, Madison, v. 31, n. 3, p. 1893-1900, Dec. 2002.

SHIKHOVA, N. S. Some regularities in the accumulation of lead in urban plants (by example of Vladivostok). **Contemporary Problems of Ecology**, Oxford, v. 5, n. 2, p. 285-294, Mar. 2012.

SILVA, D. S.; MARQUES, E. E.; LOLIS, S. F. **Macrófitas aquáticas: vilãs ou mocinhas?** Rio de Janeiro: Interface, 2012.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2004.

TANGAHU, B. V. et al. A review on heavy metals (As, Pb and Hg) uptake by plants through Phytoremediation. **International Journal of Chemical Engineering**, Oxford, v. 1, n. 1, p. 1-31, June 2011.

TARDIVO, R C.; BACH, A.; MORO, R. S. **Macrófitas aquáticas da represa de alagados: patrimônio natural dos Campos Gerais do Paraná**. Ponta Grossa: Editora da UEPG, 2007.

- TESKE, M.; TRENTINI, A. M. **Herbarium**: compêndio de fitoterapia. 4. ed. Curitiba: Herbarium Laboratório Botânico, 2001.
- TOWNSEND, C. R.; BEGON, M.; HARPER, J. L. **Fundamentos em ecologia**. 2. ed. Porto Alegre: Atmed, 2006.
- UTHSCSA image tool: image processing and analyses program: version 3.0. San Antonio: University of Texas, 2002. Disponível em: <<http://ddsdx.uthscsa.edu/dig/itdesc.html>>. Acesso em: 15 out. 2013.
- VACULÍK, M. et al. Root anatomy and element distribution vary between two *Salix caprea* isolates with different Cd accumulation capacities. **Environmental Pollution**, Barking, v. 163, p. 117-126, Apr. 2012.
- VELASQUEZ, J. **Plantas acuáticas vasculares de Venezuela**. Caracas: Universidade Central de Venezuela, 1994.
- VIANA, J. M.W. et al. Distribuição de macrófitas aquáticas no açude de Apipucos. In: JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO, 10., 2010, Recife. **Anais...** Recife: Editora da UFRRE, 2010.
- WERYSZKO-CHMIELEWSKA, E.; HWIL, M. Lead-induced histological and ultrastructural changes in the leaves of soybean (*Glycine max* (L.) Merr). **Soil Science and Plant Nutrition**, Tokyo, v. 51, n. 1, p. 203-212, Apr. 2005.
- WIESER, M. E.; COPLEN, T. B. Atomic weights of the elements 2009. **Pure and Applied Chemistry**, Oxford, v. 83, n. 2, p. 359-396, 2011.
- XIAO, X. et al. Potential of *Pteris vittata* L. for phytoremediation of sitios co-contaminated with cadmium and arsenic: the tolerance and accumulation. **Journal Environmental Sciences**, Los Angeles, v. 20, n. 1, p. 62-67, 2008.
- XIE, Y. et al. Studies on lead-binding protein and interaction between lead and selenium in the human erythrocytes. **Industrial Health**, Kawasaki, v.36, n. 3, p. 234-239, July 1998.
- YAO, Z. et al. The 7 International Conference on waste management and technology. Review on remediation technology of soil contaminated by heavy metals. **Procedia Environmental Sciences**, Amsterdam, v. 16, n. 2, p. 722-729, 2012.

ZACH, A. et al. Vessel diameter and xylem hydraulic conductivity increase with tree height in tropical rainforest trees in Sulawesi, Indonesia. **Flora**, London, v. 205, n. 8, p. 506–512, 2010.

ZHANG, G. L. et al. Historical change of heavy metals in urban soils of Nanjing, China during the past 20 centuries. **Environmental International**, New York, v. 31, n. 6, p. 913-919, Aug. 2005.