



DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v19n6p605-612>

Relações da anatomia radicular na absorção, no acúmulo e na tolerância ao chumbo em *Echinodorus grandiflorus*

Estefânia S. Ribeiro¹, Marcio P. Pereira¹, Evaristo M. de Castro¹, Gabriel de R. Baroni², Felipe F. Corrêa¹ & Fabricio J. Pereira¹

¹ Programa de Pós-Graduação em Botânica Aplicada/ Departamento de Biologia/Universidade Federal de Lavras. Lavras, MG. E-mail: estefaniasantosribeiro@gmail.com; marciopaulop@hotmail.com; emcastro@dbi.ufla.br; felipesjvb@hotmail.com; fabriciopereira@dbi.ufla.br (Autor correspondente)

² Departamento de Biologia/Universidade Federal de Lavras. Lavras, MG. E-mail: gabrielbaroni92@gmail.com

Palavras-chave:

chapéu-de-couro
macrófitas aquáticas
fitorremediação
metais pesados
anatomia vegetal

RESUMO

A contaminação por chumbo (Pb) é uma preocupação crescente em todo o mundo uma vez que os ambientes aquáticos são sujeitos sobretudo a inúmeras fontes de poluição. Este trabalho teve, como objetivo, avaliar a tolerância de *E. grandiflorus* ao Pb e sua capacidade de acumular e alocar o poluente e a relação dessas características com a anatomia radicular. Foram montados experimentos com plantas de *E. grandiflorus* expostas às seguintes concentrações de Pb em solução nutritiva: [0; 0,75; 1,5; 3,0 e 9,0 μM de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$]. As plantas foram mantidas nessas condições, durante 60 dias. Avaliaram-se, ao final do experimento, a concentração de chumbo na biomassa das plantas e as modificações na anatomia radicular. As plantas de *E. grandiflorus* acumularam 113,74 mg Pb kg^{-1} de matéria seca com translocação reduzida para a parte aérea. As modificações no xilema radicular demonstraram aumento na capacidade de condução de água e nutrientes nas plantas expostas ao Pb. Constatou-se espessamento da exoderme e do córtex radicular; é provável que essas modificações estejam relacionadas com a maior alocação de Pb nas raízes. As plantas de *Echinodorus grandiflorus* são capazes de absorver e acumular Pb principalmente nas raízes; esta absorção é, por outro lado, modulada pela anatomia radicular.

Key words:

large burhead
water macrophytes
phytoremediation
heavy metals
plant anatomy

Relationship between root anatomy on the uptake, storage and tolerance to lead of *Echinodorus grandiflorus*

ABSTRACT

Lead (Pb) contamination is a growing concern worldwide and water environment is particularly subjected to many sources of pollution. This study aimed to evaluate the tolerance of Pb in *Echinodorus grandiflorus* and its capacity to absorb and accumulate this pollutant, as well as the relationship of these characteristics with root anatomy. Experiments were conducted using *E. grandiflorus* plants exposed to the following Pb levels in nutrient solution: [0, 0.75, 1.5, 3.0, and 9.0 μM of $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$]. Plants were maintained in these conditions for 60 days. At the end of the experiment Pb levels in plant biomass as well as the modifications in the root anatomy were evaluated. *E. grandiflorus* accumulated 113.74 mg Pb kg^{-1} of dry matter and reduced translocation to shoots. Xylem modifications in roots showed increased water and nutrient conduction capacity in plants exposed to Pb. Exodermis and root cortex thickening were detected and may be related to lead allocation in roots. *Echinodorus grandiflorus* plants are able to absorb and accumulate Pb mainly in roots and this absorption is modulated by root anatomy.

INTRODUÇÃO

O chumbo (Pb) ocorre naturalmente na crosta terrestre; contudo, atividades antrópicas promovem sua acumulação nos ecossistemas ocasionando impactos ambientais e sociais. Este elemento pode ser um dos maiores poluentes do ambiente (Gratão et al., 2005) sendo considerado um dos maiores problemas ambientais (Shen et al., 2002).

O uso de plantas na remediação ambiental tem aumentado nos últimos anos, sendo essas técnicas conhecidas como fitorremediação com base no uso de plantas associadas à sua microbiota para imobilizar ou remover o poluente do solo e da água (Pilon-Smits, 2005). A fitorremediação tornou-se uma alternativa de interesse emergente para a restauração desses locais contaminados (Xiao et al., 2008; Ali et al., 2013); no entanto, para sua aplicação os mecanismos de tolerância das plantas e o efeito desses elementos em espécies nativas de locais contaminados, devem ser melhor estudados.

A absorção do Pb do solo pelas raízes ocorre através da membrana plasmática possivelmente por meio de canais catiônicos (Romeiro et al., 2007). O Pb absorvido pelas plantas pode induzir, direta e indiretamente, diversas alterações morfológicas, fisiológicas e bioquímicas, tais como: inibição da germinação de sementes, diminuição do crescimento, redução da produção de clorofilas, peroxidação lipídica, estresse oxidativo, danos ao material genético e alterações da atividade enzimática (Sharma & Dubey, 2005; Shahid et al., 2012).

O estudo da tolerância de macrófitas aquáticas a elementos tóxicos vem sendo relatado na literatura para muitas espécies, como: *Eichhornia crassipes* (Pereira et al., 2011), *Pistia stratiotes* (Silva et al., 2013) e *Typha latifolia* (Lyubenova et al., 2013).

Echinodorus grandiflorus ssp. *grandiflorus* pertence à família Alismataceae é uma macrófita enraizada com folhas emergentes, popularmente conhecida como chapéu-de-couro (Cardoso et al., 2005). Ocorre desde os Estados Unidos até a Argentina estando restrita ao hemisfério ocidental (Lehtonen, 2008). *E. grandiflorus* é importante quanto aos seus aspectos ecológicos, de vez que serve para a alimentação e refúgio de várias espécies além de reduzir a erosão do solo (Joaquim et al., 2010) e possuir importância medicinal (Cardoso et al., 2005). A espécie possui aspectos anatômicos típicos de macrófitas aquáticas, como a presença de aerênquima, folhas anfiestomáticas e dorsiventrais (Leite et al., 2012); contudo, modificações ocasionadas por fatores ambientais em sua anatomia e na fisiologia, ainda não foram relatados na literatura.

Estudos com macrófitas aquáticas nativas das Américas, ainda são escassos quanto à sua tolerância ao Pb e à capacidade de acumular este metal. Tais estudos são de grande importância para entender a ecologia dessas espécies e mesmo para sua utilização em sistemas de fitorremediação. Devido à sua ampla distribuição geográfica, a *E. grandiflorus* pode possuir capacidade de tolerar ambientes adversos; desta forma, o presente trabalho propôs avaliar a tolerância de *E. grandiflorus* ao Pb, sua capacidade de acumular e alocar este elemento e a relação dessas características, com a anatomia de raízes.

MATERIAL E MÉTODOS

Plantas de *E. grandiflorus* foram coletadas em uma área alagada próxima à região de Lavras, MG, livre de fontes

aparentes 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, no Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras, onde foram cultivadas em solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1950), modificada com 40% de força iônica, e vermiculita, como substrato; as plantas permaneceram na casa de vegetação durante 90 dias para a formação dos clones.

Os clones foram uniformizados quanto ao tamanho e transferidos para bandejas plásticas com capacidade para sete litros. Visando à montagem do experimento, as plantas foram uniformizadas com base em critérios de tamanho e fitossanidade. Os tratamentos foram constituídos de seis diferentes concentrações de Pb sendo: zero (controle), 0,75; 1,5; 3,0; 6,0 e 9,0 μM de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$. A solução contendo os tratamentos teve seu pH ajustado para 5,8 razão por que foi trocada em intervalos de 15 dias.

As concentrações de Pb utilizadas nos diferentes tratamentos foram obtidas com base no valor máximo permitido (VPM) 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. O experimento teve duração de 60 dias em delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos e quatro repetições. A parcela experimental foi constituída de uma bandeja com uma planta.

Para a análise da concentração de Pb nas raízes, rizomas e folhas de uma planta por tratamento, os órgãos coletados foram lavados em água corrente e posteriormente secados em estufa a 60 °C, por 72 h; em seguida, a massa seca de cada órgão foi triturada em moinho de facas tipo Wiley, etapa após a qual 500 mg de massa seca foram pesados em balança analítica e submetidos a digestão nitroperclórica, de acordo com o método proposto por Sarruge & Haag (1974); desta forma, 10 mL de HNO_3 concentrado foram misturados deixando-se as amostras em repouso, durante 12 h; a digestão foi feita na temperatura de 150 °C durante 30 min até a redução de aproximadamente a metade do volume de HNO_3 adicionado; depois deste período foi adicionado 1,0 mL de HClO_4 P.A. e a temperatura do bloco digestor aumentada para 210 °C, por 20 min até o clareamento da solução. O produto da digestão (amostra) foi transferido para balão volumétrico de 25 mL sendo acrescentados 10 mL de água destilada e levados para leitura em Espectrômetro de Absorção Atômica, modalidade chama fazendo-se três avaliações para cada órgão com parcela experimental de uma alíquota do produto da digestão.

Aos 60 dias, duas raízes de cada repetição foram coletadas, lavadas em água corrente e fixadas em F.A.A.70% - (formaldeído, ácido acético glacial p.a. e etanol 70%, na proporção de 0,5: 0,5: 9) pelo tempo de 72 h e posteriormente conservadas em etanol 70% (Kraus & Arduin, 1997). Para a confecção do laminário permanente as amostras foram desidratadas em série etílica, infiltradas e incluídas em hidróxietil-metacrilato Leica® (Heidelberger, Alemanha), seccionadas em micrótomo semi-automático (KD-3368, Ciencor Scientific, São Paulo, Brasil). Foram realizadas 12

secções de cada raiz, coradas com azul de toluidina 1% e montadas em bálsamo do Canadá, além de analisados dez campos para cada secção.

As lâminas foram analisadas em microscópio trinocular Olympus CX41 (Olympus, Tokyo, Japan) com sistema de captura acoplado, sendo as análises realizadas no software de análise de imagens UTHSCSA-ImageTool versão 3.0. As características anatômicas avaliadas nas raízes foram: espessura da epiderme, da endoderme, do córtex e da exoderme, proporção de xilema no cilindro vascular, de floema no cilindro vascular, de elementos de vaso no xilema e 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 multiplicadas por 100.

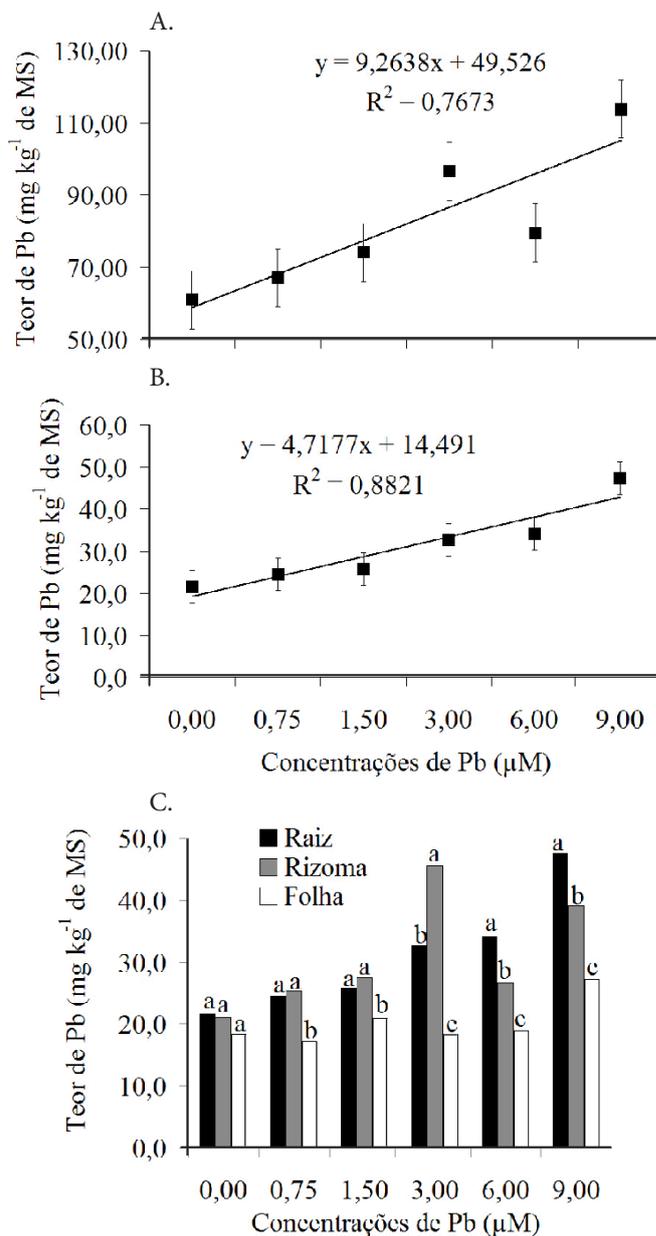
As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o software SISVAR 5.0 (Ferreira, 2011). Antes da realização de uma análise paramétrica os dados foram testados quanto à sua normalidade enquanto os que não apresentaram distribuição normal foram transformados. Os dados foram submetidos à análise de variância em delineamento inteiramente casualizado e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott, com 0,05 de probabilidade de erro (apenas para a comparação da concentração de Pb nos diferentes órgãos), ou os dados foram submetidos à regressão (para os dados da concentração total de Pb na planta e nas raízes, além dos dados de anatomia radicular).

RESULTADO E DISCUSSÃO

A concentração de Pb máxima acumulada em plantas de *E. grandiflorus* foi de 113,74 mg kg⁻¹ de massa seca e a concentração de Pb aumentou linearmente com o aumento do elemento na solução (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 porém entre 30 e 300 mg kg⁻¹ deste elemento graves efeitos de toxicidade são detectados (Shikhova, 2012). Portanto, *E. grandiflorus* conseguiu sobreviver mesmo em concentrações de Pb consideradas tóxicas tratando-se, portanto, de uma espécie tolerante a este metal nas concentrações testadas.

O aumento da concentração de Pb na solução promoveu um aumento linear da concentração de Pb para as raízes (Figura 1B), nos rizomas ($y = 3,2117x + 19,574$; $R^2 = 0,4101$) e folhas ($y = 1,3357x + 15,447$; $R^2 = 0,464$). O conteúdo de Pb nos três órgãos analisados variou de acordo com as diferentes concentrações usadas sendo que nas menores concentrações a quantidade de chumbo foi maior nas raízes e rizomas em comparação com as folhas; na concentração intermediária de 3 µM o rizoma foi o órgão que apresentou maior concentração do metal; entretanto, as raízes e os rizomas apresentaram, nas duas maiores concentrações, maiores concentrações de Pb, que as folhas (Figura 1C).

De acordo com Sharma & Dubey (2005), o conteúdo de Pb nos órgãos vegetativos tende a diminuir na seguinte ordem: raiz > folhas > caules. A maior compartimentalização do Pb nas raízes também é relatada por Alves et al. (2008), que avaliaram a tolerância, a absorção e a distribuição do elemento em plantas de vetiver (*Vetiveria zizanioides* (L.) Nash), jureminha



As médias seguidas de mesma letra em cada concentração não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott para $p < 0,05$. Barras equivalem ao erro padrão. Letras MS - massa seca

Figura 1. Acúmulo e alocação de Pb nos diferentes órgãos de *E. grandiflorus* expostas a concentrações crescentes de chumbo, durante 60 dias. Acúmulo total de Pb (A). Acúmulo de Pb nas raízes (B) e comparação entre órgãos para cada concentração de Pb (C)

(*Desmanthus virgatus* (L.) Willd) e algaroba (*Prosopis juliflora* (SW) DC). Probst et al. (2009) também encontraram maiores concentrações do metal nas raízes e caules do que nas folhas em *Vicia faba*. Kumar et al. (2012) obtiveram resultados semelhantes em *Talinum triangulare* (Jacq.) Willd (espinafre Ceilão) e Tangahu et al. (2011) com 25 espécies de plantas relacionadas à fitorremediação. Em *E. grandiflorus*, os órgãos subterrâneos (raízes e rizomas) acumulam mais Pb do que na parte aérea das plantas demonstrando comportamento semelhante ao descrito para outras espécies de plantas.

Este maior acúmulo de Pb nas raízes pode estar relacionado com o espessamento das barreiras apoplásticas radiculares (Sharma & Dubey, 2005; Castro et al., 2009) e pode ser um dos mecanismos de tolerância ao Pb em *E. grandiflorus* impedindo

que grandes quantidades de Pb fossem translocadas para a parte aérea e prejudicassem os processos metabólicos que ocorrem na folha. Portanto, a compartimentalização do Pb nas raízes e rizomas e a manutenção de baixas concentrações deste elemento nas folhas, mesmo com o aumento do Pb na solução, podem ter sido o principal fator que determinou a sobrevivência das plantas de *E. grandiflorus* durante a exposição prolongada caracterizando, sem dúvida, uma estratégia de tolerância ao referido metal tóxico.

Quando em secção transversal, as raízes de *E. grandiflorus* são constituídas de uma epiderme unisseriada com células

aproximadamente tabulares (Figura 2). 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 2) enquanto o córtex mediano é formado por aerênquima composto de grandes câmaras separadas por faixas (trabéculas) de células (Figura 2). O córtex interno é formado por células parenquimáticas organizadas radialmente possuindo uma endoderme unisseriada na parte mais interna (Figura 2). O cilindro vascular é poliarco com pólos de protoxilema intercalados com o floema envolvidos por um

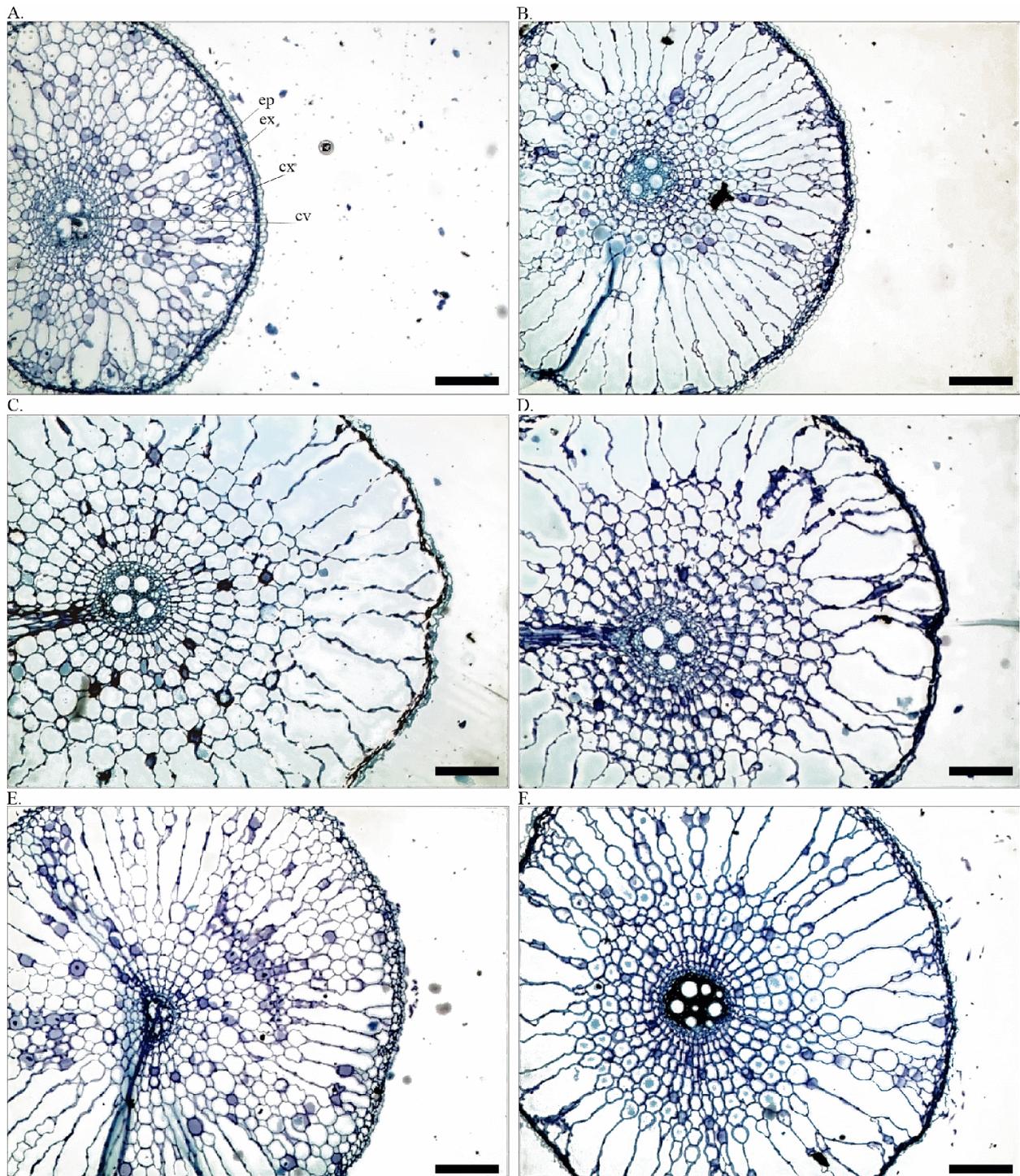


Figura 2. Secções transversais da raiz de *E. grandiflorus* em diferentes concentrações de chumbo. A = controle (0); B = 0,75; C = 1,5; D = 3,0; E = 6,0 e F = 9,0 μM de Pb. ep = epiderme, ex = exoderme, cx = córtex, cv = cilindro vascular. Barras = 200 μm

periciclo parenquimático (Figuras 2 e 3). Os tecidos radiculares não demonstraram sinais de necrose, desestruturação nem modificação no conteúdo celular, em função da presença de chumbo (Figuras 2 e 3).

O Pb promoveu modificações significativas na estrutura 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 4A) e da exoderme ($y = -0,218x + 2,31$ e $R^2 = 0,16$) com o aumento da concentração do elemento; apesar disto, o córtex aumentou sua espessura à medida que

as plantas foram expostas a maiores concentrações de Pb ($y = 21,228x + 642,53$ e $R^2 = 0,28$) chegando a aumentar cerca de 50% sua espessura nas maiores concentrações (Figura 2A-F). A endoderme também demonstrou aumento proporcional à concentração de Pb na solução (Figura 4B).

A epiderme é o primeiro tecido das raízes que entra em contato com a solução poluída pelo Pb. A resposta deste tecido nas plantas pode variar e aumentar em algumas plantas (Pereira et al., 2013a) ou, ainda, reduzir extremamente sendo substituída pela exoderme (Castro et al., 2009). Várias características radiculares regulam a condutividade hidráulica

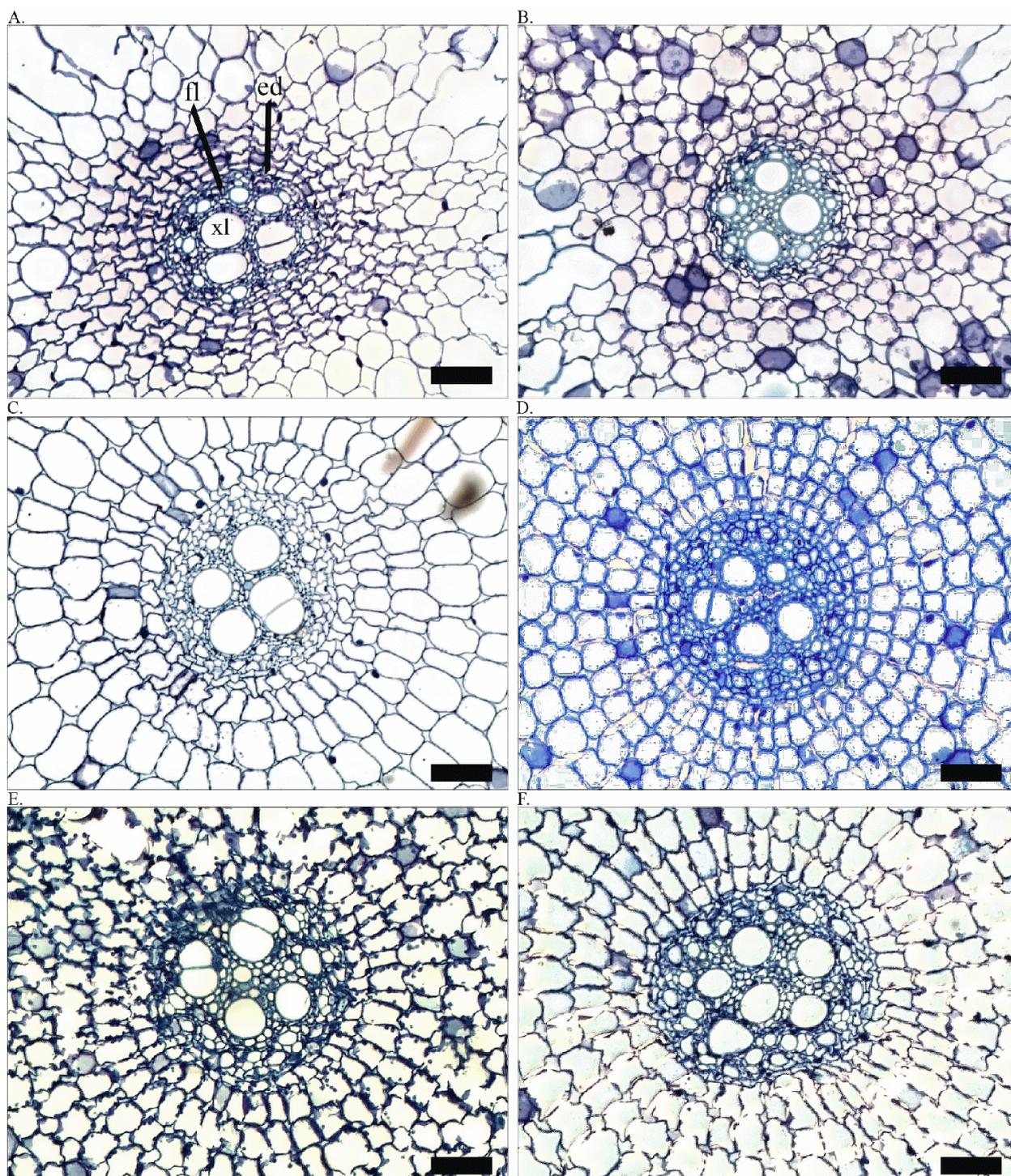


Figura 3. Secções transversais da nervura central de raízes de *E. grandiflorus* sob diferentes concentrações de chumbo. A = controle (0); B = 0,75; C = 1,5; D = 3,0; E = 6,0 e F = 9,0 μM de Pb. fl = floema, xl = xilema, ed = endoderme. Barras = 50 μm

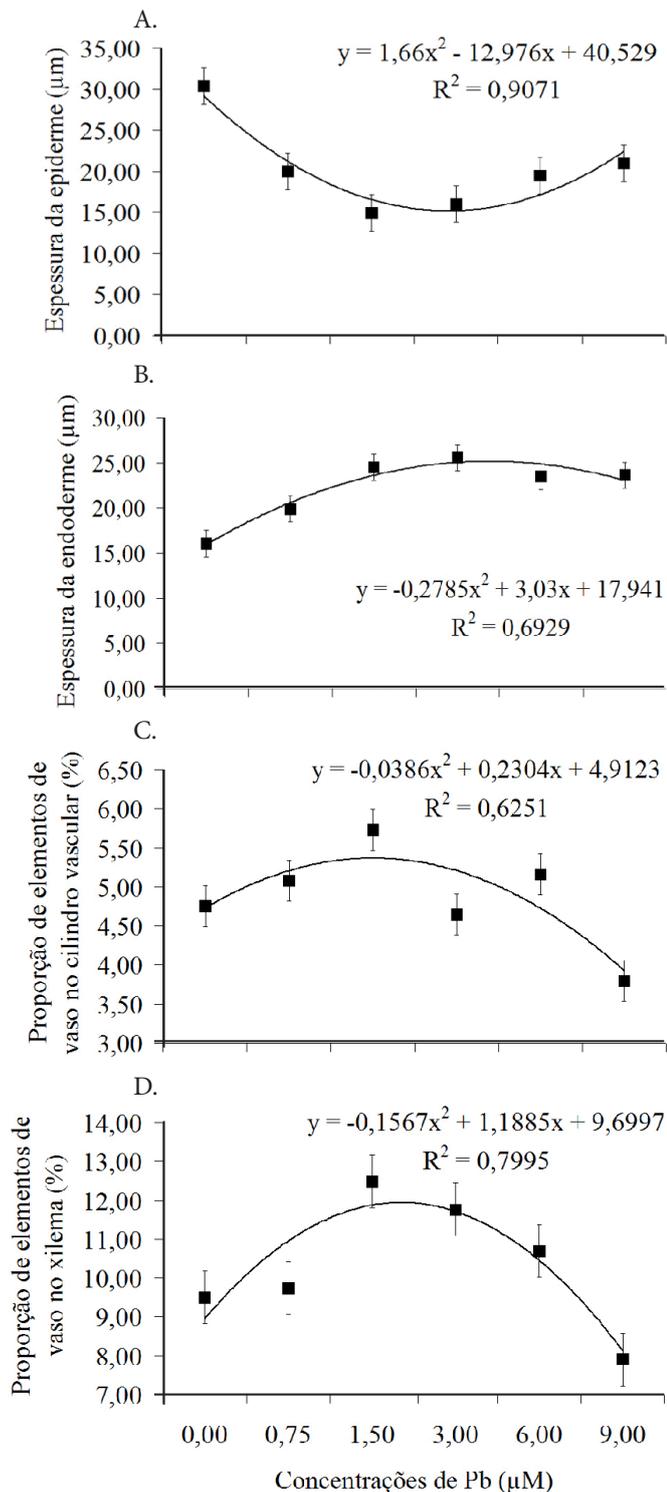


Figura 4. Modificações nas barreiras apoplásticas e tecidos vasculares das raízes de *E. grandiflorus* sob diferentes concentrações de chumbo. As barras equivalem ao erro padrão

das raízes envolvendo as suas diferentes regiões e tecidos sendo a espessura do córtex um limitante significativo do fluxo de água em raízes (Rieger & Litvin, 1999). As principais barreiras apoplásticas em raízes são a exoderme e a endoderme, sendo a última o principal limitante do fluxo de poluentes da parte externa das raízes para o cilindro vascular fazendo com que as substâncias se acumulem no córtex radicular (Peterson et al., 1981; Castro et al., 2009). Pode-se verificar, em plantas submetidas ao Pb, um espessamento da endoderme como em

plantas de *Schinus molle* (Pereira et al., 2013). Desta forma, o aumento no córtex e na endoderme observado nas plantas de *E. grandiflorus* pode ser relacionado a uma restrição no fluxo do poluente da solução para o cilindro vascular das raízes, diminuindo o fluxo deste elemento para a parte aérea das plantas e reduzindo seus efeitos tóxicos. Este é um mecanismo comum em plantas submetidas ao Pb, observando-se maior restrição deste poluente nas raízes, como forma de tolerar sua toxicidade (Sharma & Dubey, 2005) e o mesmo resultado pode ser observado para muitas outras plantas submetidas a diferentes metais tóxicos (Krämer, 2010). Assim, 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 este um importante mecanismo para impedir que referido poluente afete os tecidos fotossintéticos das folhas e mantenha a fotossíntese e o crescimento das plantas.

Os tecidos vasculares das raízes foram modificados pelas concentrações de Pb em *E. grandiflorus*. Observa-se redução na proporção de xilema no cilindro vascular em função do aumento na concentração de Pb na solução ($y = -0,3109x^2 - 2,8912x + 50,447$ e $R^2 = 0,33$). Contudo, houve um aumento na proporção do floema em função do aumento das concentrações de Pb ($y = -0,3357x^2 - 2,9742x + 49,404$ e $R^2 = 0,40$). 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 4C) e na área no xilema (Figura 4D) nas menores concentrações de Pb; constata-se, porém, uma queda da proporção de elementos de vaso a partir da concentração de 1,5 μM de Pb.

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 et al., 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). Desta forma, o aumento na proporção de floema no cilindro vascular das raízes de *E. grandiflorus* pode ser um importante mecanismo de defesa ao Pb, uma vez que permite manter a alocação de fotoassimilados para o crescimento das raízes.

Em função do aumento na proporção do floema houve redução na proporção de xilema no cilindro vascular das raízes. Apesar desta redução na proporção de xilema, observou-se um aumento na proporção de elementos de vaso, a qual pode ser uma forma de compensação visto que os elementos de vaso são as principais células condutoras de água e nutrientes em angiospermas (Castro et al., 2009) sendo que o seu aumento pode ser relacionado a uma capacidade maior de condução no xilema; desta forma, as modificações observadas no xilema radicular de *E. grandiflorus* podem ser consideradas benéficas e parte da tolerância da espécie ao Pb pois não denotam fitotoxicidade e permitem atribuir uma eficiência maior para o xilema e floema, quanto ao potencial de condução.

CONCLUSÕES

1. As plantas de *Echinodorus grandiflorus* são capazes de acumular chumbo em níveis acima dos considerados tóxicos elemento este que fica alocado em suas raízes.

2. As raízes da espécie são tolerantes aos efeitos do chumbo não demonstrando necrose em seus tecidos nem perda funcional para absorção de água e nutrientes.

3. As raízes de *E. grandiflorus* aumentam a exoderme e o córtex na presença de Pb retendo o elemento neste órgão; além disto, aumentam a proporção de floema no cilindro vascular permitindo a manutenção do crescimento do sistema radicular da espécie.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior; ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais

LITERATURA CITADA

- Ali, H.; Khan, E.; Sajad, M. A. Phytoremediation of heavy metals. Concepts and application. *Chemosphere*, v.91, p.869-881, 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.01.075>
- Alves, J. C.; Souza, A. P.; Pôrto, M. L.; Arruda, J. A.; Tompson Júnior, U. A.; Silva, G. B.; Araújo, R. C.; Santos, D. Absorção e distribuição de chumbo em plantas de vetiver, jureminha e algaroba. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v.32, p.1329-1336, 2008. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-06832008000300040>
- 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*, v.86, p.95-96, 2005.
- Castro, E. M.; Pereira, F. J.; Paiva, R. Histologia vegetal: Estrutura e função de órgãos vegetativos. 1.ed. Lavras: UFLA, 2009. 234p.
- Ferreira, D. F. Sisvar: A computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, v.35, p.1039-1042, 2011. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542011000600001>
- Gratão, P. L.; Prasad, M. N. V.; Cardoso, P. F.; Lea, P. J.; Azevedo, R. A. Phytoremediation: green technology for the clean up of toxic metals in the environment. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, v.17, p.53-64, 2005. <http://dx.doi.org/10.1590/S1677-04202005000100005>
- Hoagland, D. R.; Arnon, D. I. The water-culture method for growing plants without soil. Berkeley: University of California, 1950. 32p.
- Jiang, W.; Liu, D. Pb-induced cellular defense system in the root meristematic cells of *Allium sativum* L. *Plant Biology*, v.10, p.1-8, 2010. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2229-10-40>
- Joaquim, W. M.; Ono, E. O.; Salatino, M. L. F.; Rodrigues, J. D. Year season on epicuticular waxes in leaves of *Echinodorus grandiflorus* (Cham & Schltdl.) Micheli (Alismataceae). *Naturalia*, v.33, p.8-19, 2010.
- Krämer, U. Metal hyperaccumulation in plants. *Annual Review of Plant Biology*, v.61, p.517-534, 2010. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-arplant-042809-112156>
- Kraus, J. E.; Arduin, M. Manual básico de métodos em morfologia vegetal. Seropédica: EDUR, 1997. 198p.
- Kumar, A.; Prasad, M. N. V.; Sytar, O. Lead toxicity defence strategy and associated indicative biomarkers in *Talium triangulare* grown hydroponica. *Chemosphere*, v.89, p.1056-1065, 2012. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.05.070>
- Lehtonen, S. An integrative approach to species delimitation in *Echinodorus* (Alismataceae) and description of two new species. *Kew Bulletin*, v.63, p.525-563, 2008. <http://dx.doi.org/10.1007/s12225-008-9068-0>
- 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. *Brazilian Journal of Biology*, v.72, p.163-169, 2012. <http://dx.doi.org/10.1590/S1519-69842012000100019>
- Lyubenova, L.; Pongrac, P.; Vogel-Mikus, K. The fate of arsenic, cadmium and lead in *Typha latifolia*: A case study on the applicability of micro-PIXE in plant ionomics. *Journal of Hazardous Materials*, v.248, p.371-378, 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.01.023>
- Pereira, F. J.; Castro, E. M.; Oliveira, C.; Pires, M. F.; Pasqual, M. Mecanismos anatômicos e fisiológicos de plantas de aguapé para a tolerância à contaminação por arsênio. *Planta Daninha*, v.29, p.259-267, 2011. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-83582011000200003>
- Pereira, M. P.; Pereira, F. J.; Rodrigues, L. C. A.; Barbosa, S.; Castro, E. M. Fitotoxicidade do chumbo na germinação e crescimento inicial de alface em função da anatomia radicular e ciclo celular. *Agro@ambiente*, v.7, p.36-43, 2013a.
- Pereira, M. P.; Pereira, F. J.; Corrêa, F. F.; Oliveira, C.; Castro, E. M.; Barbosa, S. Lead tolerance during germination and early growth of the Brazilian peppertree and the morpho-physiological modifications. *Revista de Ciências Agrárias*, v.56, p.72-79, 2013b. <http://dx.doi.org/10.4322/rca.2013.084>
- 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*, v.59, p.618-625, 1981. <http://dx.doi.org/10.1139/b81-087>
- Pilon-Smits, E. Phytoremediation. *Annual Review of Plant Biology*, v.56, p.15-39, 2005. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.arplant.56.032604.144214>
- Probst, A.; Liu, H.; Fanjul, M.; Liao, B.; Hollande, E. Response of *Vicia Faba* L. to metal toxicity on mine tailing substrate: geochemical and morphological changes in leaf and root. *Environmental and Experimental Botany*, v.66, p.297-308, 2009. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envexpbot.2009.02.003>
- Rieger, M.; Litvin, P. Root system hydraulic conductivity in species with contrasting root anatomy. *Journal of Experimental Botany*, v.50, p.201-209, 1999. <http://dx.doi.org/10.1093/jxb/50.331.201>
- Romeiro, S.; Lagôa, A. M. M. A.; Furlani, P. R.; Abreu, C. A.; Pereira, B. F. F. Lead uptake and potential for fitoremediation of *Canavalia ensiformes* L. *Bragantia*, v.66, p.327-334, 2007. <http://dx.doi.org/10.1590/S0006-87052007000200017>
- Shahid, M.; Pinelli, E.; Dumat, C. Review of Pb availability and toxicity to plants in relation with metal speciation; role of synthetic and natural organic ligands. *Journal of Hazardous Materials*, v.1, p.1-12, 2012. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.01.060>
- Sarruge, J. R.; Haag, H. P. Análises químicas em plantas. Piracicaba: ESALQ, 1974, 56p.
- Sharma, P.; Dubey, R. S. Lead toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, v.17, p.35-52, 2005. <http://dx.doi.org/10.1590/S1677-04202005000100004>
- Shen, Z. G.; Li, X. D.; Wang, C. C.; Chen, H. M.; Chua, H. Lead phytoextraction from contaminated soil with high biomass plant species. *Journal Environmental Quality*, v.31, p.1893-1900, 2002. <http://dx.doi.org/10.2134/jeq2002.1893>

- Shikhova, N. S. Some regularities in the accumulation of lead in urban plants (by example of Vladivostok). *Contemporary Problems of Ecology*, v.5, p.285-294, 2012. <http://dx.doi.org/10.1134/S1995425512020126>
- Silva, S. A.; Techio, V. H.; Castro, E. M.; Faria, M. R.; Palmieri, M. J. Reproductive, Cellular, and Anatomical Alterations in *Pistia stratiotes* L. Plants Exposed to Cadmium. *Water, Air, & Soil Pollution*, v.224, p.1454-1461, 2013. <http://dx.doi.org/10.1007/s11270-013-1454-z>
- Tangahu, B. V.; Abdullah, S. R. S.; Basri, H.; Idris, M.; Anuar, N.; Mukhlisin, M. A review on heavy metals (As, Pb and Hg) uptake by plants through phytoremediation. *International Journal of Chemical Engineering*, v.1, p.1-31, 2011. <http://dx.doi.org/10.1155/2011/939161>
- Xiao, X.; Chen, T.; An, Z.; Lei, M.; Huang, Z.; Liao, X.; Liu, Y. Potential of *Pteris vittata* L. for phytoremediation of sites co-contaminated with cadmium and arsenic: the tolerance and accumulation. *Journal Environmental Sciences*, v.20, p.62-67, 2008. [http://dx.doi.org/10.1016/S1001-0742\(08\)60009-1](http://dx.doi.org/10.1016/S1001-0742(08)60009-1)