



CÍNTIA OLIVEIRA SILVA

**CARACTERÍSTICAS ANATÔMICAS E
FISIOLÓGICAS DE *Typha domingensis* Pers.
SUBMETIDA A CONCENTRAÇÕES
CRESCENTES DE ARSÊNIO**

LAVRAS – MG

2014

CÍNTIA OLIVEIRA SILVA

**CARACTERÍSTICAS ANATÔMICAS E FISIOLÓGICAS DE *Typha*
domingensis Pers. SUBMETIDA A CONCENTRAÇÕES CRESCENTES
DE ARSÊNIO**

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

Orientador

Dr. Evaristo Mauro de Castro

LAVRAS – MG

2014

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

Silva, Cíntia Oliveira.

Características anatômicas e fisiológicas de *Typha domingensis*
Pers. submetida a concentrações crescentes de arsênio/ Cíntia
Oliveira Silva. – Lavras : UFLA, 2014.

56 p. : il.

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

Orientador: Evaristo Mauro de Castro.

Bibliografia.

1. Fitorremediação. 2. Metal pesado. 3. Poluição ambiental. 4.
Taboa. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 628.55

CÍNTIA OLIVEIRA SILVA

**CARACTERÍSTICAS ANATÔMICAS E FISIOLÓGICAS DE *Typha*
domingensis Pers. SUBMETIDA A CONCENTRAÇÕES CRESCENTES
DE ARSÊNIO**

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

APROVADA em 25 de fevereiro de 2014.

Dr. Fabrício José Pereira UFLA

Dra. Cláudia Lopes Selvati de O. Mori UFLA

Dr. Evaristo Mauro de Castro
Orientador

LAVRAS – MG

2014

*À Deus, Senhor de toda força e poder.
À minha mãe Vera, ao meu pai José, ao meu irmão Cristóvão e ao David,
amores da minha vida.*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo dom da vida e a dádiva da esperança.

À minha família, que muitas das vezes fez o longe ficar perto, e com que eu me sentisse acolhida em seus corações.

Ao professor Dr. Evaristo Mauro de Castro, meu orientador, pelos ensinamentos.

À Dra. Cynthia de Oliveira, minha coorientadora, pelos ensinamentos e amizade.

Ao professor Dr. Fabrício José Pereira, pela ajuda e ensinamentos.

A todos os professores do Programa de Pós Graduação em Botânica Aplicada.

Ao Ítalo, técnico do Laboratório de Anatomia Vegetal, por toda ajuda na parte técnica, essencial para a conclusão desse trabalho e pela amizade.

A todos os funcionários da UFLA, que colaboram diariamente para o bom andamento de nossos estudos, pesquisa e vivência na Universidade.

A todos os amigos da Botânica que fizeram comigo essa caminhada, dividindo alegrias e momentos de luta.

A todos que me ajudaram no desenvolvimento do experimento (Tuany, João Paulo, Marinês, Márcio, Estefânia, Luciana, Katiúscia Freire, Katiúcia Fernandes, Luiz, Grécia).

Ao David, pelo amor, amizade e cumplicidade. Pela ajuda emocional, científica e técnica, tão essenciais à conclusão de mais uma etapa em minha vida.

À amiga Katiúcia Fernandes, pelo exemplo de profissionalismo, exemplo de vida, a quem dedico sincera admiração.

Às amigas Danielly Gama e Sandra Eliza, pela acolhida em Lavras e amizade, serei eternamente grata.

À Universidade Federal de Lavras e ao Programa de Pós Graduação em Botânica Aplicada.

À Capes, pela concessão da bolsa de estudos.

*Ainda que eu falasse as línguas dos homens e dos anjos, e não tivesse amor,
seria como o metal que soa ou como o sino que tine.
E ainda que tivesse o dom de profecia, e conhecesse todos os mistérios e toda a
ciência, e ainda que tivesse toda a fé, de maneira tal que transportasse os
montes, e não tivesse amor, nada seria.
Agora, pois, permanecem a fé, a esperança e o amor, estes três, mas o maior
destes é o amor.*

1 Coríntios 13; 1-2,13.

RESUMO

A contaminação de ambientes aquáticos por arsênio (As) tem origem por meio da ação antrópica ou pela liberação de altos níveis deste elemento por processos naturais. Entre as fontes de contaminação, destacam-se aquelas ocasionadas pela atividade humana, via aplicação de produtos agrícolas ou de rejeitos de mineração. Diversas plantas aquáticas têm sido utilizadas em programas de fitorremediação, no biomonitoramento da poluição por metais pesados, devido à sua tolerância e capacidade de absorção e acúmulo de substâncias inorgânicas. É nesse contexto, que objetivou-se, no presente trabalho, avaliar o comportamento de *Typha domingensis* Pers., quando submetida à concentrações crescentes de As. Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação na Universidade Federal de Lavras, Departamento de Ciências Biológicas, onde as plantas foram cultivadas em solução nutritiva de Hoagland & Arnon 40% e submetidas às concentrações crescentes de As (0,00; 0,25; 0,50; 1,00; 2,00 e 4,00 Mg L⁻¹). Foram realizadas análises anatômicas foliares e radiculares em microscopia de luz e análises fisiológicas utilizando o medidor portátil de clorofila SPAD-502 e o analisador de trocas gasosas por infravermelho (IRGA). Os teores de clorofila sofreram redução significativa à medida que as concentrações de As aumentaram, a condutância estomática e a transpiração apresentaram um significativo aumento à medida que as concentrações de As aumentaram, a funcionalidade dos estômatos não foi alterada. A epiderme e o parênquima paliçádico das folhas tenderam a aumentar suas espessuras em presença de As. A fotossíntese manteve-se inalterada na presença do As. A epiderme da raiz apresentou menor espessura à medida que as concentrações de As aumentaram, podendo indicar princípios de toxicidade ao As. Exoderme e endoderme foram os tecidos responsáveis por criar barreiras apoplásticas contra a difusão do metal pelo corpo da planta. As alterações anatômicas e fisiológicas ocorreram de modo a favorecer a tolerância de *T. domingensis* ao As.

Palavras-chave: Fitorremediação. Metal Pesado. Biomonitoramento. Poluição Ambiental. taboa.

ABSTRACT

The contamination of aquatic environments by Arsenic (As) has its origins through anthropic action or through the release of high levels of this element by natural processes. Among the sources of contamination, we highlight those caused by anthropic actions through the application of agricultural or mining tailings. Many aquatic plants have been used in phytoremediation programs, in biomonitoring heavy metal pollution, due to its tolerance and absorption and accumulation capacity of inorganic substances. It is in this context that the present study aimed at evaluating the behavior of *Typha domingensis* Pers. when subjected to increasing concentrations of As. The experiments were conducted in a greenhouse at the Universidade Federal de Lavras, Department of Biological Sciences, where the plants were cultivated in Hoagland & Arnon 40 % nutritive solution and submitted to increasing concentrations of As (0.00, 0.25, 0.50, 1.00, 2.00 and 4.00 mg L⁻¹). Foliar and root anatomical analyzes were performed by lighted microscopy, as well as physiological analyses using a portable SPAD-502 chlorophyll meter (Konica Minolta, Tokyo, Japan) and an infrared gas exchange analyzer ((IRGA) LI - 6400 model). The chlorophyll content showed significant reduction as the concentrations of As increased, and stomatal functionality was not altered. The epidermis and palisade parenchyma of the leaves presented the tendency to increase the thickness in the presence of As. Photosynthesis remained unaltered in the presence of As. Root epidermis presented reduction in thickness with the increase of As concentrations. This may indicate the beginning of toxicity to As. The exodermis and endodermis were the tissues responsible for creating apoplastic barriers against the diffusion of the metal throughout the plant body. The anatomical and physiological changes occurred in a way which favored the tolerance of *T. domingensis* to As.

Keywords : Phytoremediation . Heavy Metal . Biomonitoring . Environmental Pollution . taboa .

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 Secção transversal da face abaxial de folhas de *T. domingensis*, submetidas à concentrações crescentes de As. Com evidência nas fotos, os tecidos epidérmicos, parenquimáticos e feixe vascular (xilema/floema). A: controle; B: Concentração 0,25 mg L⁻¹; C: Concentração 0,50 mg L⁻¹; D: Concentração 1,00 mg L⁻¹; E: Concentração 2,00 mg L⁻¹; F: Concentração 4,00 mg L⁻¹. 39
- Figura 2 Secção transversal adaxial de folhas de *T. domingensis*, submetidas à concentrações crescentes de As. Com evidência os tecidos epidérmicos, parenquimáticos e feixe vascular (xilema/floema). A: Controle; B: 0,25 mg L⁻¹; C: 0,50 mg L⁻¹; D: 1,00 mg L⁻¹; E: 2,00 mg L⁻¹; F: 4,00 mg L⁻¹ 40
- Figura 3 A-F Secção transversal de raiz de *Typha domingensis*. Em evidência a epiderme, exoderme, córtex. A- Controle; B- 0,25 mg L⁻¹; C- 0,50 mg L⁻¹; D- 1,00 mg L⁻¹; E- 2,00 mg L⁻¹; F- 4,00 mg L⁻¹ 43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Concentrações As utilizadas no experimento.....	29
Tabela 2	Teor de clorofila em folhas de <i>T. domingensis</i> submetidas a concentrações crescentes de arsênio.....	33
Tabela 3	Trocas gasosas de folhas de <i>T. domingensis</i> submetidas a concentrações crescentes de arsênio.....	34
Tabela 4	Características anatômicas de folhas de <i>T. domingensis</i> , em secção paradérmica sob concentrações crescentes de arsênio (mg L^{-1}).....	37
Tabela 5	Característica foliar em secção transversal de <i>T. domingensis</i> , sob concentrações crescentes de arsênio (mg L^{-1}).....	41
Tabela 6	Características anatômicas em corte transversal de raízes de <i>T. domingensis</i> , submetidas à concentrações crescentes de As	44

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	HIPÓTESE	16
3	OBJETIVOS	17
4	REFERENCIAL TEÓRICO	18
4.1	Macrófitas aquáticas	18
4.2	<i>Typha domingensis</i> Pers.	19
4.3	Contaminação dos Ecossistemas Aquáticos por Metais Pesados	22
4.4	A Fitorremediação	24
4.5	Adaptações morfológicas, anatômicas e fisiologias de espécies submetidas a estresse	26
5	MATERIAL E MÉTODOS	28
5.1	Obtenção do material	28
5.2	Instalação do Experimento	28
5.3	Método para analisar concentração de clorofila	29
5.4	Método para análise da taxa fotossintética	29
5.5	Método para análise anatômica dos tecidos das folhas e raízes	30
5.6	Análise Estatística	31
5.7	Descarte do material	31
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
7	CONCLUSÕES	48
	REFERÊNCIAS	49

1 INTRODUÇÃO

O arsênio é um elemento traço altamente tóxico para os seres vivos. Em solos não contaminados, podem ser encontrados teores inferiores a 10 mg kg^{-1} (ADRIANO, 2001). Em áreas contaminadas, seu teor pode chegar a valores três mil vezes superiores a esse (VAUGHAN, 1993). Teores elevados de As no solo podem ser resultantes de ações antropogênicas, por meio do uso de pesticidas (herbicidas e fungicidas), fertilizantes, mineração de ouro, chumbo, cobre e níquel, além da combustão de carvão (BAIRD, 2002). Substratos contaminados por As são encontrados em áreas de mineração de Au, Cu, U, por exemplo, associados a sulfetos metálicos como a arsenopirita (AsFeS) (BENZA AZOUA et al., 2004). No Brasil, uma das áreas mais problemáticas quanto à presença de As em substratos, e conseqüentemente em águas de consumo humano, é a região do Quadrilátero Ferrífero no estado de Minas Gerais. Os locais de maior impacto são áreas próximas a minas de Au, como nos municípios de Nova Lima, Ouro Preto, Raposos, Mariana, Santa Bárbara e João Pinheiro (RIBEIRO JÚNIOR, 2002).

No Brasil, é vigente a legislação ambiental que exige que áreas degradadas por atividades antrópicas sejam recuperadas. A recuperação de áreas contaminadas e degradadas por metais pesados visa minimizar ou evitar a dispersão dos contaminantes para outros nichos ecológicos e a contaminação da população humana, bem como restaurar a funcionalidade e a diversidade dos ecossistemas impactados. Entre os metais pesados, são incluídos outros elementos tóxicos que, a rigor, deveriam ser classificados como metaloides, como é o caso do arsênio, e até não metais, como é o caso do selênio (MELO, 2006).

Tendo em vista o impacto que o arsênio causa no ambiente, é de extrema necessidade o desenvolvimento de técnicas para descontaminação de áreas com elevadas concentrações desse metaloide.

A fitorremediação tem sido considerada uma técnica emergente e de baixo custo para a “limpeza” de áreas contaminadas por elementos tóxicos (ACCIOLY; SIQUEIRA, 2000). A procura por alternativas para despoluir áreas contaminadas por diferentes compostos é cada vez mais frequente. Procuram-se identificar técnicas que apresentem eficiência na descontaminação, simplicidade na execução, menor tempo demandado pelo processo e menor custo. Sendo assim, aumenta o interesse pela utilização da biorremediação, caracterizada como uma técnica que descontamina o solo e a água por meio da utilização de organismos vivos, como microrganismos e plantas (PIRES et al., 2003). Dentro da biorremediação, a fitorremediação é uma das técnicas mais estudadas. Segundo Pires et al. (2003), essa técnica envolve o emprego de plantas e sua microbiota associada na remediação de áreas contaminadas por elementos tóxicos.

Na fitorremediação, as plantas agem removendo, armazenando, transferindo e estabilizando os metais pesados presentes nos ambientes contaminados. A planta ideal para fitorremediação de ambientes contaminados deve ser tolerante aos altos níveis do poluente sem sofrer toxicidade, acumular grandes quantidades na parte aérea e raízes, ter alta taxa de crescimento, produzir muita biomassa e ter sistema radicular abundante. Caso a planta seja sensível ao poluente, apresentando sintomas, a mesma pode ser considerada um indicador ecológico da poluição (ANDERSON; WALTON, 1995).

Estudos revelam que as plantas que crescem sobre áreas ricas em metais pesados podem apresentar adaptações anatômicas e morfológicas em resposta ao estresse provocado pela ação desses. Ao mesmo tempo, essa resposta pode se manifestar na forma de produção de compostos orgânicos secundários, como

mecanismos de tolerância, conferindo à planta maior resistência ao estresse (ZOCCHÉ, 2002).

Tendo em vista que a descontaminação de lugares poluídos trará uma melhor qualidade de vida às comunidades que vivem em ambientes contaminados com elementos tóxicos e sabendo-se do risco iminente à saúde dos seres humanos, bem como a toda biodiversidade existente nesses locais, a remediação dessas áreas passa a ser mais que uma exigência legal e assume um compromisso social que precisa ser executado.

2 HIPÓTESE

O presente estudo fundamenta-se nas seguintes hipóteses: a macrófita aquática *Typha domingensis*, ao crescer na presença de As apresenta mecanismos de adaptação e tolerância sem sofrer prejuízos às suas funções vitais. *Typha domingensis* é uma espécie indicada como remediadora de águas contaminadas por As.

3 OBJETIVOS

Verificar os efeitos do As na anatomia radicular e foliar de *Typha domingensis*. Verificar os efeitos do As sobre a fotossíntese, transpiração, condutância estomática e teor de clorofila em *Typha domingensis*.

4 REFERENCIAL TEÓRICO

4.1 Macrófitas aquáticas

Macrófitas aquáticas ou plantas aquáticas vasculares são aquelas cujas partes da planta que realizam fotossíntese, permanecem submersas em água ou flutuantes na superfície (PEDRALLI, 2003). As macrófitas aquáticas representam uma importante comunidade em ecossistemas límnicos por contribuírem para a diversidade biológica e por apresentarem elevada biomassa e alta produtividade (HENRY-SILVA; CAMARGO, 2003).

O Brasil apresenta a característica de possuir lagos relativamente rasos, possibilitando, amplamente, o domínio dessas áreas por macrófitas (SETTI; WERNECK; CHAVES, 2001). Dentre as inúmeras espécies de macrófitas, com ocorrência nas águas continentais brasileiras, muitas são excelentes bioindicadoras da qualidade das águas (ESTEVES, 1998). Tais espécies, por absorverem altas concentrações de nutrientes, vêm sendo utilizadas com sucesso na recuperação de rios e lagos poluídos, pois suas raízes formam uma densa rede capaz de reter até as mais finas partículas em suspensão, além de absorverem substâncias tóxicas provenientes do despejo industrial e doméstico (CAMARGO; PEZZATO; HENRY-SILVA, 2003).

No Brasil, a classificação comumente aceita refere-se à macrófitas emersas, flutuantes, submersas enraizadas, submersas livres e com folhas flutuantes (POMPÊO; MOSCHINI-CARLOS, 2003). Segundo Faria (2002), quanto ao seu biótipo, as macrófitas aquáticas podem ser reunidas em cinco grandes grupos ecológicos: macrófitas aquáticas emersas enraizadas no sedimento, com folhas que crescem para fora da água. Ex: *Typha domingensis* (taboa). Macrófitas aquáticas flutuantes são as que flutuam livremente na superfície da água. Macrófitas aquáticas submersas enraizadas são as que

crecem totalmente debaixo d'água. Macrófitas aquáticas submersas livres são as que permanecem flutuando debaixo d'água, podem se prender a pecíolos e caules de outras macrófitas. Macrófitas aquáticas com folhas flutuantes e enraizadas no sedimento.

Em seu estudo sobre a capacidade de *Lemna aequinoctialis* acumular metais pesados em águas contaminadas por rejeitos industriais e domésticos, Pio, Souza e Santana (2013) concluíram que essa espécie de macrófita tem habilidade de absorver todos os metais pesados estudados (cromo, níquel, cobre, ferro, zinco e manganês). Com esses resultados, os autores concluíram que a espécie de macrófita estudada pode ser indicada como espécie mitigadora de água contaminada por esses metais, bem como espécie bioacumuladora dos mesmos.

Além de possuírem uma alta taxa de crescimento e ser de fácil cultivo, a diversidade ecológica que ocorre na rizosfera das macrófitas promove várias reações químicas e biológicas, capazes de aumentar a purificação da água contaminada (HADAD; MAINE; BONETTO, 2006). As macrófitas aquáticas se mostraram eficientes também na remoção de sólidos em suspensão, nutrientes e substâncias orgânicas tóxicas (LEWIS, 1995).

4.2 *Typha domingensis* Pers.

Typha domingensis Pers. pertence a uma pequena família botânica, Typhaceae, que engloba um único gênero *Typha*, com cerca de 15 espécies. São conhecidas popularmente como taboas e distribuídas em todo o mundo entre o círculo polar Ártico e o paralelo 30 no Hemisfério Sul (REITZ, 1984). Segundo o mesmo autor, o gênero é representado por ervas aquáticas, paludosas, ou lacustres, perenes, com rizoma rasteiro, abundante em amido, catafilos dísticos, caducos. Os caules eretos, simples, cilíndricos, anodos, maciços na base, em

geral submersos. As folhas dísticas, linear-alongadas, coriáceas, ou tanto grossamente esponjosas, espiraladas e levemente tortas. Lâminas com secção transversa plano-convexa, semicilíndricas, ou quase plana, ou biconvexa, ou elíptica, ou triquetra.

Em linhas gerais, *T. domingensis* Pers. é uma planta de 1,10 a 2,50 m de altura, com folhas que sobrepõem, igualam ou não alcançam a inflorescência; bainhas inferiores paulatinamente continuadas na lâmina, e as superiores mais auriculadas; aurículas simétricas ou assimétricas; lâmina de 34 a 120 cm de comprimento por 0,5 – 1,6 cm de largura, face adaxial plana, face abaxial suavemente convexa. Floresce e frutifica de julho a fevereiro (REITZ, 1984). Dentre as espécies de taboas, *T. domingensis* é a mais tolerante à água salobra. Não raramente observam-se várias espécies desse gênero ocorrendo juntas, o que provoca a hibridização, tornando difícil a identificação (CORDAZZO; SEELIGER, 1995). São muito frequentes em margens de lagos, reservatórios, canais de drenagem e várzeas. Possuem importância comercial, pois servem de matéria- prima para a confecção de móveis e de celulose (KISSMANN; GROTH, 2000).

Typha sp. são monocotiledôneas helófitas que apresentam seu sistema radicular e caulinar, em contato com o solo ou água e as folhas são aéreas. Em tais espécies, o desenvolvimento das raízes primárias, em geral, se dá por um curto período de tempo, sendo o sistema radicular formado pelas raízes adventícias que se originam no caule, formando o sistema radicular fasciculado. O caule é um rizoma, e as folhas apresentam um ângulo variado em relação ao solo ou a água, tendendo à verticalidade; são paralelógramas e com mesófilo simétrico, na maioria das vezes (PIL; BOEGER, 2005).

T. domingensis apresenta uma série de características que a qualificam como sendo de elevado potencial para a fitorremediação, tais como a tolerância a ambientes impactados, crescimento vegetativo rápido e alta produção de

biomassa. As modificações na estrutura anatômica de suas raízes e folhas, órgãos mais sujeitos às alterações ambientais a classificam como espécie bioindicadora. Podem ser utilizadas como indicadoras da concentração anômala de metais pesados, como chumbo e cádmio, no sedimento e na água (FREITAS, 2007).

O estudo de áreas contaminadas por metais pesados e da capacidade de fitorremediação de *Typha domingensis* tem sido bastante abordado. Abdel-Ghani, Hegazy e El-Chaghaby (2009) e Hegazy, Abdel-Ghani e El-Chaghaby (2011), mostraram que indivíduos de *Typha domingensis* que vivem em águas contaminados por rejeitos industriais e agrícolas têm a habilidade de remover ferro, zinco, chumbo e alumínio, bem como a capacidade de acumular esses metais em seus tecidos.

Em seu estudo de áreas contaminadas por rejeitos industriais, Hadad et al. (2010) identificaram adaptações morfológicas em *T. domingensis* como resposta à presença dos metais níquel, ferro, manganês, zinco e cobre. A espécie apresentou modificações morfológicas internas e externas, como aumento do diâmetro dos vasos de metaxilema, maior acúmulo de biomassa e altura das plantas. Segundo os mesmos autores, esses resultados representam a adaptabilidade da espécie em viver em ambientes estressantes e lhe confere maior capacidade em absorver os contaminantes e acumulá-los em seus tecidos.

Mojiri (2012), ao estudar comunidades de *T. domingensis* que viviam em águas residuais de rejeitos industriais e domésticos, relatou que essa espécie acumulou em seus tecidos radiculares, concentrações elevadas de ferro, manganês, zinco, níquel e cádmio, e concluiu que essa espécie pode ser indicada como bioacumuladora desses metais e empregada como fitorremediadora dessas águas residuais.

Mufarrege et al. (2011) analisaram a capacidade de *T. domingensis* em sobreviver e criar adaptações fisiológicas e morfológicas a ambientes de elevado

pH e salinidade. Os resultados apresentados, permitiram concluir que *T. domingensis* possui plasticidade morfológica que permite a sua adaptação à essas condições extremas. Embora *T. domingensis* não seja uma espécie com estruturas anatômicas adaptadas para tolerar e excretar sais, ela é capaz de adaptar sua morfologia e se adaptar.

Devido à sua alta plasticidade e capacidade de adaptação a ambientes estressantes, *T. domingensis* pode ser empregada como espécie remediadora de águas e sedimentos contaminados por metais pesados e de águas de elevados pH e salinidade.

4.3 Contaminação dos Ecossistemas Aquáticos por Metais Pesados

A presença de concentrações baixas de metais pesados nos ecossistemas aquáticos decorre naturalmente da lenta lixiviação do solo e de rochas (CHANG; WEN; WANG, 2000). Todavia, o desenvolvimento da indústria e da agricultura promoveu um rápido aumento da poluição ambiental, gerando altos níveis de Hg, Cr, Pb, Cd, Cu, Zn, Ni, entre outros nos sistemas aquáticos (ZHOU et al., 2008).

Segundo Zhou et al. (2008), quando esses elementos encontram-se disponíveis no ambiente, são absorvidos pelas plantas e incorporados aos demais organismos do ambiente aquático, principalmente pela alimentação, acumulando-se ao longo da cadeia trófica. Os danos causados pela bioacumulação dos metais pesados, ao longo da cadeia trófica são muitos, entre eles a morte de organismos planctônicos e a diminuição de populações de consumidores primários e secundários, como peixes e aves. Além disso, as plantas, quando expostas à contaminação por metais pesados, podem apresentar danos morfológicos e fisiológicos (KARENLAMPI et al., 2000), que prejudicam o seu crescimento e desenvolvimento.

A contaminação de ambientes aquáticos por arsênio tem origem por meio da ação antrópica ou pela liberação de altos níveis desse elemento por processos naturais. Os níveis de As originados por processos naturais são provenientes da lixiviação de resíduos minerais liberados pela ação do intemperismo de rochas magmáticas e sedimentares (MELO et al., 2009).

Entre as fontes de contaminação, destacam-se aquelas ocasionadas pela atividade humana, via aplicação de produtos agrícolas ou de rejeitos de mineração (MELO et al., 2009).

A toxicidade do As em plantas pode resultar em interrupção do fluxo energético entre as células, por esse elemento competir com o elemento fósforo (P), devido às suas semelhanças químicas (KABATA-PENDIAS; MUKHERJEE, 2007).

O arsênio (As) é um elemento classificado no grupo V da Tabela Periódica, juntamente com nitrogênio, fósforo, antimônio e bismuto. É classificado com metaloide ou semimetal, porque, em muitas situações, comporta-se como um ametal. A oxidação do As elementar (0) pode resultar em arsenato (+5), arsenito (+3) e arsina (-3) (SIMON et al., 1999).

As formas inorgânicas do As são consideradas mais tóxicas do que as formas orgânicas ou metiladas, como o MMA (ácido monometilarsênico) e o DMA (ácido dimetilarsênico), por exemplo (MELO, 2006). Em solução, os estados de oxidação mais frequentemente encontrados são o As (III) e o As (V), que ocorrem como ácido arsenioso (H_2AsO_4^- ; HAsO_4^{2-}), respectivamente, essas podem ser convertidas para formas orgânicas através da ação de microrganismos (O'NEIL, 1995).

O As é tóxico para animais, plantas e seres humanos (WANG et al., 2010), havendo grande risco para saúde pública nas regiões em que esse metaloide encontra-se em altas concentrações, devido à possibilidade de entrada na cadeia alimentar. Estudos têm demonstrado que a ingestão de água

contaminada e o consumo de alimentos irrigados com água contendo As, são as principais vias de contaminação por esse metaloide (KILE et al., 2007).

Dessa forma, técnicas que visam a descontaminação destes ambientes tornam-se essenciais para a saúde pública e a segurança alimentar.

4.4 A Fitorremediação

Como a evolução das tecnologias vem se direcionando para soluções cada vez mais naturais, já há um reconhecimento comprovado de que o processo de atenuação natural, como a fitorremediação, pode contribuir de forma significativa no controle de contaminação do solo e das águas, além de ser economicamente mais viável que as outras tecnologias empregadas. A fitorremediação possui também, como importante característica, sua grande versatilidade, podendo ser utilizada para remediação do meio aquático, ar ou solo, com variantes que dependem dos objetivos a serem atingidos (ACCIOLY; SIQUEIRA, 2000).

A remediação de áreas contaminadas é uma exigência legal e um compromisso social que precisam ser executados, criando demandas tecnológicas, oportunidades de pesquisa científica e possibilidades de negócios (ACCIOLY; SIQUEIRA, 2000).

De acordo com os estudos de Davis et al. (2002) na fitorremediação, os vegetais podem atuar de forma direta ou indireta na redução e/ou remoção dos contaminantes. Na remediação direta, os compostos são absorvidos e acumulados ou metabolizados nos tecidos, através da mineralização dos mesmos. Na forma indireta, os vegetais extraem contaminantes das águas subterrâneas, reduzindo assim a fonte de contaminação ou quando a presença de plantas propicia meio favorável ao aumento da atividade microbiana, que degrada o contaminante. Os mecanismos de fitorremediação considerados

diretos subdividem-se em fitoextração, fitotransformação e fitovolatilização, e os mecanismos indiretos em fitoestabilização e fitoestimulação.

O mecanismo de fitoextração refere-se à capacidade da planta em absorver o contaminante do solo, armazená-lo em suas raízes ou em outros tecidos (folhas e caules), facilitando posteriormente seu descarte. Durante o processo de fitotransformação, a planta absorve o contaminante da água e do solo fazendo a sua bioconversão, no seu interior ou em sua superfície, para formas menos tóxicas. É empregado, principalmente, na remediação de compostos orgânicos (DAVIS et al., 2002).

A Fitovolatilização acontece quando a planta, após absorver os contaminantes provenientes do solo ou da água, converte-os para formas voláteis, sendo posteriormente liberados na atmosfera. A volatilização pode ocorrer pela biodegradação na rizosfera ou após a passagem na própria planta e, dependendo da atuação ou não dos processos metabólicos, a liberação do contaminante para a atmosfera pode ocorrer na forma original ou transformada (DAVIS et al., 2002).

No mecanismo indireto de fitoestimulação / rizodegradação a planta estimula a biodegradação microbiana dos contaminantes presentes no solo ou na água, através de exsudados radiculares, fornecimento de tecidos vegetais como fonte de energia, sombreamento e aumento da umidade do solo, favorecendo as condições ambientais para o desenvolvimento dos microorganismos (DAVIS et al., 2002).

Fitoestabilização é o mecanismo que refere-se à capacidade que algumas plantas possuem em reduzir a mobilidade e a migração dos contaminantes presentes no solo, seja através da imobilização, lignificação ou humificação dos poluentes nos seus tecidos vegetais. Os contaminantes permanecem no local. A vegetação e o solo podem necessitar de um longo tempo de manutenção para

impedir a liberação dos contaminantes e uma futura lixiviação dos mesmos, ao longo do perfil do solo (DAVIS et al., 2002).

4.5 Adaptações morfológicas, anatômicas e fisiologias de espécies submetidas a estresse

A plasticidade fenotípica retrata a habilidade de um organismo alterar sua fisiologia e/ou morfologia em decorrência de sua interação com o ambiente (SCHEINER, 1993). Espécies com grande potencial para plasticidade, em caracteres ligados à sobrevivência, apresentam vantagens adaptativas em ambientes instáveis, heterogêneos ou de transição, visto que as mudanças produzidas podem facilitar a exploração de novos nichos, resultando no aumento da tolerância ambiental (VIA et al., 1995).

Exemplos clássicos de plasticidade fenotípica descrevem variações na forma e tamanho de folhas em plantas terrestres e heterofilia em folhas aéreas e submersas de espécies aquáticas (BRADSHAW, 1965).

Em ambientes xéricos, como a caatinga no Brasil, as plantas são adaptadas a sobreviverem em um ambiente de alta incidência de radiação luminosa, baixa umidade, elevadas temperaturas e chuvas escassas. Para tanto, as espécies de caatinga apresentam adaptações morfológicas e/ou fisiológicas que possibilitam a sobrevivência nessas determinadas condições e evitam a perda excessiva de água. Dentre essas, pode-se destacar o mecanismo de fechamento estomático, a redução da área foliar, a senescência e a caducifolia (SANTOS; CARLESSO, 1998), bem como o ajustamento osmótico (NOGUEIRA, 1997).

A presença de grandes volumes gasosos intercelulares no parênquima cortical da raiz tem sido observada em espécies adaptadas a locais inundados. Esses volumes gasosos facilitam o transporte de oxigênio da parte aérea para a

raiz e reduzem a hipoxia nas raízes, principal causa de distúrbios fisiológicos que podem ocorrer em plantas de locais inundados (BACANAMWO; PURCELL, 1999).

No vegetal, os metais pesados desencadeiam respostas fisiológicas e alterações em níveis estruturais e ultraestruturais, como a danificação de lipídeos de membrana, proteínas, pigmentos e ácidos nucléicos (WÓJCIK et al., 2005). As plantas, ao serem expostas aos metais pesados, além das alterações fisiológicas, apresentam também modificações morfológicas e anatômicas. Sridhar, Han e Monts (2005) observaram a redução no tamanho das células do parênquima paliçádico e da epiderme foliar de *Brassica juncea*, cultivadas em solo contaminado com Zn e Cd. A formação de espaços intercelulares no córtex radicular de *Thlaspi caerulescens*, devido à degeneração de células, bem como pela morte celular induzida por Cd foi verificado por Wójcik et al. (2005). Alguns estudos têm mostrado alterações na arquitetura e estrutura de raiz, induzida por uma variedade de condições estressantes, tais como salinidade e metais pesados (LUX et al., 2004).

Segundo Farnese et al. (2014), em plantas de *Pistia stratiotes* expostas ao As, forma-se uma zona de abscisão no eixo de inserção da raiz na haste, o que resulta em perda radicular. Tal processo pode ser um mecanismo de defesa dessa planta para evitar a absorção do As e conseqüentemente, danos devidos ao efeito tóxico do elemento.

Tornam-se necessários estudos sobre o efeito de condições estressantes em plantas na capacidade plástica das mesmas, como meio de avaliar e elucidar possíveis mecanismos de tolerância a determinados ambientes e elementos tóxicos.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Obtenção do material

Foram coletadas plantas de *Typha domingensis* Pers., em uma lagoa livre de fontes aparentes de contaminação por As, localizada na Represa de Furnas, em Alfenas. Após a coleta, as plantas foram lavadas e selecionadas quanto à sua qualidade fitossanitária e por uniformidade de tamanho. Em seguida, levadas para casa de vegetação, no Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras, onde foram cultivadas em solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950) modificada, com 40% da força iônica total para adaptação experimental.

5.2 Instalação do Experimento

As plantas filhas, uniformizadas quanto ao tamanho, foram transferidas para baldes plásticos, com capacidade para 6,0 L. Cada balde contendo 6,0 L de solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950), como descrita para a aclimatização com concentrações de arsênio, na forma de $\text{Na}_2\text{AsHO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Os valores das concentrações de As (Tabela 1) utilizados foram obtidos com base no valor máximo permitido (VMP), para lançamento de efluentes em corpos d'água doce, segundo as Resoluções CONAMA 357/2005 e 430/2011 (BRASIL 2005, 2011). O experimento teve duração de 60 dias, em delineamento inteiramente casualizado, com seis tratamentos e cinco repetições. A parcela experimental constituiu-se de uma planta por balde.

Tabela 1 Concentrações As utilizadas no experimento

Tratamento	Concentrações de As (mg L ⁻¹)
T1 (controle)	0,0
T2	0,25
T3	0,50
T4	1,00
T5	2,00
T6	4,00

5.3 Método para analisar concentração de clorofila

As análises para medir a concentração de clorofila nas folhas foram feitas pelo medidor portátil de clorofila SPAD-502 (Konica Minolta, Tokyo, Japan). Foram analisadas 3 folhas por repetição, cada uma das folhas foram analisadas em 3 campos diferentes, sendo o total de cinco repetições por tratamento.

5.4 Método para análise da taxa fotossintética

Após um período de 60 dias, as características de trocas gasosas das plantas foram avaliadas com analisador de trocas gasosas por infravermelho (IRGA) modelo LI-6400. Foram avaliadas a condutância estomática (g_s), a taxa transpiratória (E), a taxa fotossintética (A). Para a avaliação dessas variáveis, foram selecionadas duas folhas jovens completamente expandidas em cada repetição, a partir das 08h, sendo que a densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos foi fixada na câmara do aparelho para $1.000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

5.5 Método para análise anatômica dos tecidos das folhas e raízes

Ao final dos 60 dias de experimentação, foram coletadas folhas e raízes de cinco plantas por tratamento, 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), por um período de 72 horas e posteriormente conservadas em etanol 70% (KRAUS; ARDUIN, 1997).

Foram realizadas secções paradérmicas e transversais da folha e secções transversais da raiz. As secções paradérmicas das faces abaxial e adaxial foram obtidas com o auxílio de lâminas de aço, clarificadas em solução de hipoclorito de sódio 50%, lavadas em água destilada e coradas com solução de safranina 1,0% (JOHANSEN, 1940).

As secções transversais da folha foram retiradas da região mediana e as secções transversais da raiz foram removidas a 2 cm do ápice radicular. Para confecção das lâminas permanentes, as amostras foram desidratadas em série etílica, infiltradas e incluídas em hidroxietil-metacrilato Leica®. As secções foram obtidas através de micrótomo rotativo semiautomático, coradas com azul de toluidina 0,5 % (O`BRIEN; FEDER; MCCULLY, 1964) e montadas em bálsamo do Canadá.

As lâminas foram fotografadas em câmera Moticam 2500 acoplada ao microscópio modelo Olympus CX41 e em estereomicroscópio, modelo Nikon SMZ 1500. As análises foram realizadas no software de análise de imagens Image J.

Nas lâminas de raiz foram observados: área total de aerênquima; proporção da área do cilindro vascular em relação à área total da raiz; proporção da área do córtex em relação à área total da raiz; espessura do córtex; espessura do metaxilema; circunferência total da raiz; circunferência do cilindro vascular; proporção entre a circunferência do cilindro vascular e a circunferência total;

espessura da epiderme; área do aerênquima; proporção entre a área do aerênquima e da área do córtex. Nas lâminas de folha foram avaliadas: espessura do mesófilo, área total da folha, área total do aerênquima, proporção entre a área do aerênquima e área total; número de estômatos, número de células epidérmicas, diâmetro polar e equatorial dos estômatos de ambas as faces. A avaliação da densidade estomática, índice estomático e funcionalidade estomática foram realizados em lâminas de cortes paradérmicos, retiradas das superfícies adaxial e abaxial das folhas e calculados segundo Castro, Pereira e Paiva (2009).

5.6 Análise Estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com seis tratamentos de As, com cinco repetições. Os dados foram primeiramente testados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro Wilk e, em seguida, submetidos à análise de variância e à comparação das médias pelo teste de Scott-Knott, para $p < 0,05$ ou regressão, com auxílio do software estatístico Sisvar (FERREIRA, 2007).

5.7 Descarte do material

Após o período experimental, os materiais contaminados com os metais, bem como as soluções nutritivas contaminadas, foram encaminhados para o descarte de resíduos tóxicos da UFLA, tendo ali o descarte final devido dos resíduos químicos, impedindo que os mesmos apresentem periculosidade à saúde e contaminem o ambiente.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo, a presença de arsênio (As) alterou de forma significativa a intensidade de verde nas folhas de *T. domingensis*. A partir da concentração de 0,50 mg L⁻¹ (Tabela 2), a intensidade de verde foi menor. Esse resultado pode ser justificado, pois, o arsênio compete com o fósforo, que é constituinte da molécula de ATP. O As absorvido é transportado livre através da planta, substituindo o fósforo na fosforilação oxidativa, restringindo, assim, a produção de ATP, ou podendo ativar o processo de degradação dessas moléculas (GUSMAN et al., 2013). Sem energia suficiente, a biossíntese da molécula de clorofila pode ter sido perturbada.

Segundo Fazelian, Asrar e Kalantari (2012), o As pode ocasionar distúrbios na síntese de clorofila, bem como promover a degradação desse pigmento, resultando na alta incidência de clorose em folhas de plantas expostas a esse metaloide.

Segundo Schoefs e Bertrand (2005), o acúmulo de arsênio também é capaz de interferir na biossíntese de clorofila através da indução da deficiência de ferro (Fe) ou da inibição do processo.

Quando o arsênio é absorvido pelas plantas, ele continuará a competir com o fósforo pelos mesmos sítios de ligação, afetando o metabolismo vegetal, comprometendo a produção de fosfatos-açúcares e de metabólitos intermediários da respiração e da fotossíntese; alterando os fosfolipídeos que compõem as membranas vegetais, incluindo as dos cloroplastos, e danificando as moléculas de ATP, DNA e RNA (TAIZ; ZEIGER, 1991).

O estresse ocasionado pelo As perturba a homeostase redox das células, ocasionando a rápida formação de ROS, tais como O₂^{•-} e H₂O₂, que ocasionam danos às proteínas, ácidos nucleicos, clorofila e lipídeos de membrana, o que pode estar ligado à diminuição de moléculas de clorofila, pois essas são

degradadas juntamente com a membrana dos cloroplastos (MISHRA; JHA; DUBEY, 2011).

O As é um elemento que é facilmente translocado para a parte aérea, como verificado no estudo com *Pistia stratiotes*, em presença desse metaloide (OLIVEIRA, 2010), podendo afetar o processo fotossintético por estar diretamente afetando o órgão responsável por este processo.

Melo et al. (2009), em seu estudo também encontraram concentrações elevadas de arsênio, comparadas com a faixa considerada normal, em folhas de aveia, azevém e amendoim.

Pode ser sugerido sobre o presente estudo que a presença de As nas plantas afeta a síntese de clorofila, bem como a sua degradação.

Tabela 2 Teor de clorofila em folhas de *T. domingensis* submetidas a concentrações crescentes de arsênio

As (Mg L ⁻¹)	Clorofila (UNIDADE SPAD)
0,00	60,87 ^a
0,25	56,70 ^a
0,50	45,63 ^b
1,00	44,92 ^b
2,00	44,66 ^b
4,00	44,38 ^b

As médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si (Scott-Knott 5%).

As análises da taxa fotossintética mostraram-se inalteradas à medida que as concentrações de arsênio aumentaram (Tabela 3). Esses resultados mostram que a redução do teor de clorofila não ocasionou um decréscimo da fotossíntese.

Tabela 3 Trocas gasosas de folhas de *T. domingensis* submetidas a concentrações crescentes de arsênio

As (Mg L ⁻¹)	Fotossíntese(μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹)	Cond.Est (μmol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹)	Transpiração (mmol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹)
0,00	21,9055 ^a	0,8088c	6,4711d
0,25	21,1355 ^a	0,6344c	6,6100d
0,50	23,2566 ^a	0,6655c	7,7422c
1,00	23,6400 ^a	0,7588c	8,8855b
2,00	26,8644 ^a	0,892b	9,9088b
4,00	23,5533 ^a	1,0700 ^a	11,0155a

As médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si (Scott-Knott 5%).

O efeito tóxico do arsênio no processo fotossintético pode ocorrer nas fases fotoquímica, bioquímica ou em ambas (NASCIMENTO, 2007). A redução da taxa fotossintética, resultante da exposição da planta ao As, é considerada um dos mais prejudiciais efeitos desse metalóide, por induzir a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) (SILVA, 2008). Entretanto, essa redução não foi evidenciada no presente estudo, assim como no estudo de Pereira (2010), com *Eichhornia crassipes*. Os referidos autores mostraram que, quando essas plantas foram submetidas ao tratamento com As, os valores da taxa fotossintética líquida também não foram prejudicados na presença desse metaloide.

As plantas, quando sujeitas a estresses ambientais (elevada salinidade, déficit hídrico, luz intensa, temperaturas extremas, metais pesados, herbicida e deficiência mineral), têm o balanço entre a produção de EROs e atividade de antioxidantes aumentada, resultando em prejuízos oxidativos (SPYCHALLA; DESBOROUGH, 1990).

O $O_2^{\cdot-}$ é a primeira ROS a ser formada na célula, podendo diretamente ou por meio de mecanismos enzimáticos gerarem outras ROS (SHARMA, 2012). Assim, para remover o $O_2^{\cdot-}$, as plantas expostas ao As geralmente apresentam aumento na atividade da SOD e maior expressão de suas isoformas (MISHRA; JHA; DUBEY, 2011).

A redução dos teores relativos de clorofila não foi capaz de alterar de forma negativa a fotossíntese líquida de *T. domingensis*. A espécie estudada não teve, portanto, a fotossíntese alterada pelo arsênio, ou se teve, apresentou mecanismos de reparo eficientes, que possibilitaram a ela manter a sua fotossíntese em condições ideais para sobrevivência em ambientes contaminados por As.

Os resultados obtidos para a condutância estomática e transpiração (Tabela 3) apresentaram maiores valores, a partir das concentrações $2,00 \text{ mg L}^{-1}$ e $0,50 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente. Esse progressivo aumento nos valores da

condutância estomática e da transpiração indica que houve maior fluxo de CO₂, água e nutrientes para o interior das folhas. Segundo Silva (2008), efeitos tóxicos do As podem interferir na etapa fotoquímica da fotossíntese, alterando o transporte de elétrons, resultando em mudanças na formação do poder redutor (NADPH) e de ATP, e/ou de promover um aumento na emissão de fluorescência ou liberação de energia na forma de calor.

Gusman et al. (2013), relatam em seu estudo com *Lactuca sativa* L., cultivada em presença de As, que esse metaloide foi responsável pela diminuição da fotossíntese, condutância estomática e transpiração. Esses resultados foram obtidos, provavelmente devido aos efeitos do As sobre o processo de abertura e fechamento dos estômatos (NASCIMENTO, 2007).

Efeitos deletérios do As sobre a fotossíntese, condutância estomática e transpiração não foram observados no presente estudo. Embora o aumento da transpiração possa ser um fator limitante para plantas que vivem em ambientes com menor disponibilidade hídrica, para espécies aquáticas, como *T. domingensis*, passa a não ser um fator limitante, ou mesmo passa a ser um fator favorável, pois aumenta o fluxo de água para a planta e conseqüentemente, aumento o fluxo de nutrientes. Sendo assim, a presença de arsênio não causou perturbação aparente ao processo fotossintético de *T. domingensis*.

Os valores obtidos para a densidade estomática abaxial mantiveram-se equiparados às plantas controle, com um significativo aumento nas plantas submetidas às concentrações de 0,25 mg L⁻¹ e 1,00 mg L⁻¹. Os resultados obtidos revelaram que o número de estômatos por área e a densidade, não tiveram o mesmo comportamento ao que é esperado e já relatado na literatura sobre plantas submetidas a estresse, os quais mostram um aumento na densidade de estômatos (Tabela 4). Os valores obtidos para o IE (Índice Estomático) aumentaram em concentrações maiores de As, sendo que o primeiro aumento foi

registrado a partir de 0,50 mg L⁻¹, registrando um pequeno decréscimo na concentração 2,00 mg L⁻¹.

Tabela 4 Características anatômicas de folhas de *T. domingensis*, em secção paradérmica sob concentrações crescentes de arsênio (mg L⁻¹)

As (mg L ⁻¹)	DEN (E/mm ²)	IE (%)	FUN
ABAXIAL			
0,00	108,1400c	17,4573b	1,0380 a
0,25	115,6033b	15,7960b	1,0015 a
0,50	108,2866c	17,2473 ^a	1,0380 a
1,00	126,1376a	19,2753 ^a	0,9975 a
2,00	104,9210c	15,2406b	1,0640 a
4,00	97,6043c	18,6223a	1,0280 a
ADAXIAL			
0,00	119,7000a	12,6260b	0,9275 a
0,25	123,7963a	14,7946a	0,9625 a
0,50	104,1886b	13,8340a	0,9650 a
1,00	121,0166a	15,0093a	0,9990 a
2,00	104,1893b	12,4966b	1,0215 a
4,00	99,3603b	13,0956 b	1,0245 a

As médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si (Scott-Knott 5%). DEN= densidade estomática (estômato por mm² de folha), IE= índice estomático, FUN= funcionalidade estomática.

Os resultados obtidos para a face adaxial indicaram que os valores de densidade estomática tenderam à queda, sendo que, nas concentrações 0,25 mg L⁻¹ e 1,00 mg L⁻¹ os resultados são mais próximos aos valores das plantas controle (Tabela 4). Para os valores de IE, que é a relação entre o número de estômatos e o número de células epidérmicas, que permite obter informações sobre a diferenciação celular, houve aumento à medida que as concentrações de As aumentaram, sendo que as concentrações 2,00 mg L⁻¹ e 4,00 mg L⁻¹ registraram o menor aumento comparado às plantas controle (Tabela 4). Pereira (2010) verificou que plantas de aguapé, submetidas à estresse por As apresentaram aumento em seus valores de densidade estomática.

A funcionalidade estomática manteve-se inalterada nas plantas submetidas ao estresse por As (Tabela 4), sendo os valores equiparados aos valores apresentados pelas plantas controle. Segundo Rocha (2005), a relação entre os diâmetros polar e equatorial (funcionalidade) fornece um bom indicativo do formato dos estômatos, na medida em que, quanto maior essa relação mais elipsóide é o formato do estômato, e maior a sua funcionalidade. Esse resultado indica que o As não teve efeitos deletérios no funcionamento dos estômatos de *T. domingensis*, corroborando os resultados da fotossíntese, que se mantiveram sem prejuízos na presença do metaloide.

Em relação aos aspectos anatômicos das folhas de *T. domingensis*, observou-se no presente estudo que, em secção transversal, o limbo apresenta epiderme uniestratificada (Figuras 2), o mesofilo apresenta parênquima paliçádico adjacente à epiderme, formado por três a quatro camadas de células alongadas, justapostas (Figuras 2). Esse parênquima é interrompido por feixes subepidérmicos de fibras de paredes muito espessas, e lume reduzido e pequenos feixes vasculares colaterais uniformemente distribuídos por ambas as faces (Figuras 2).

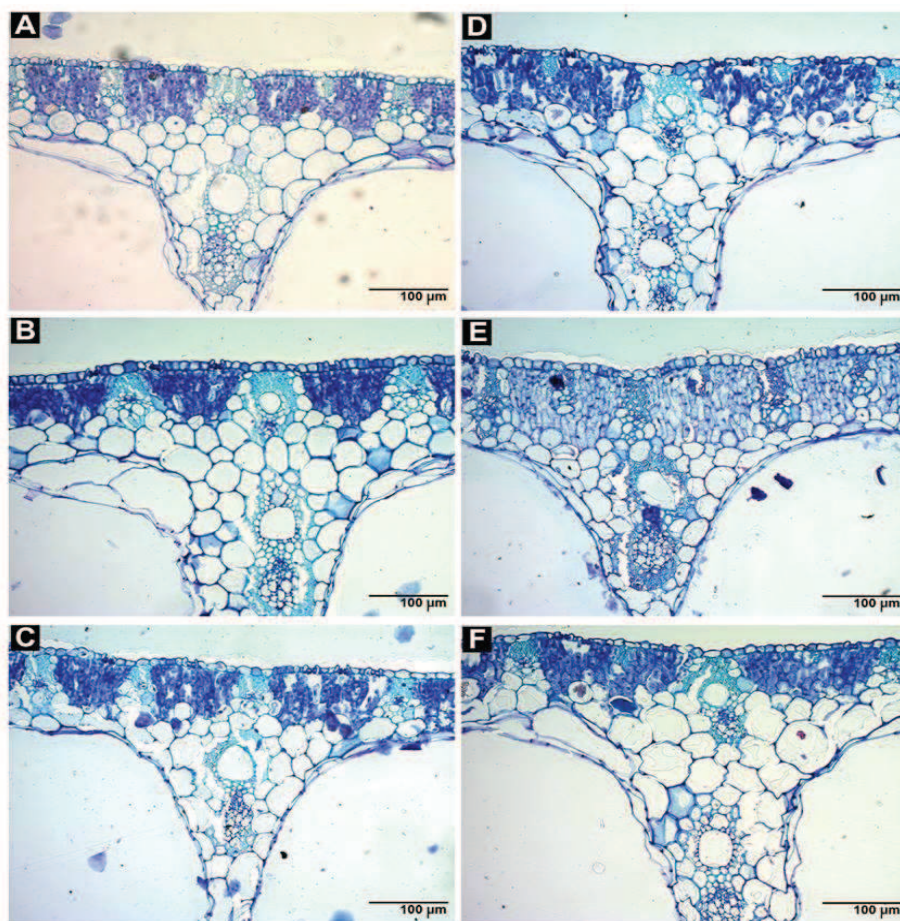


Figura 1 Secção transversal da face abaxial de folhas de *T. domingensis*, submetidas à concentrações crescentes de As. Com evidência nas fotos, os tecidos epidérmicos, parenquimáticos e feixe vascular (xilema/floema). A: controle; B: Concentração 0,25 mg L⁻¹; C: Concentração 0,50 mg L⁻¹; D: Concentração 1,00 mg L⁻¹; E: Concentração 2,00 mg L⁻¹; F: Concentração 4,00 mg L⁻¹.

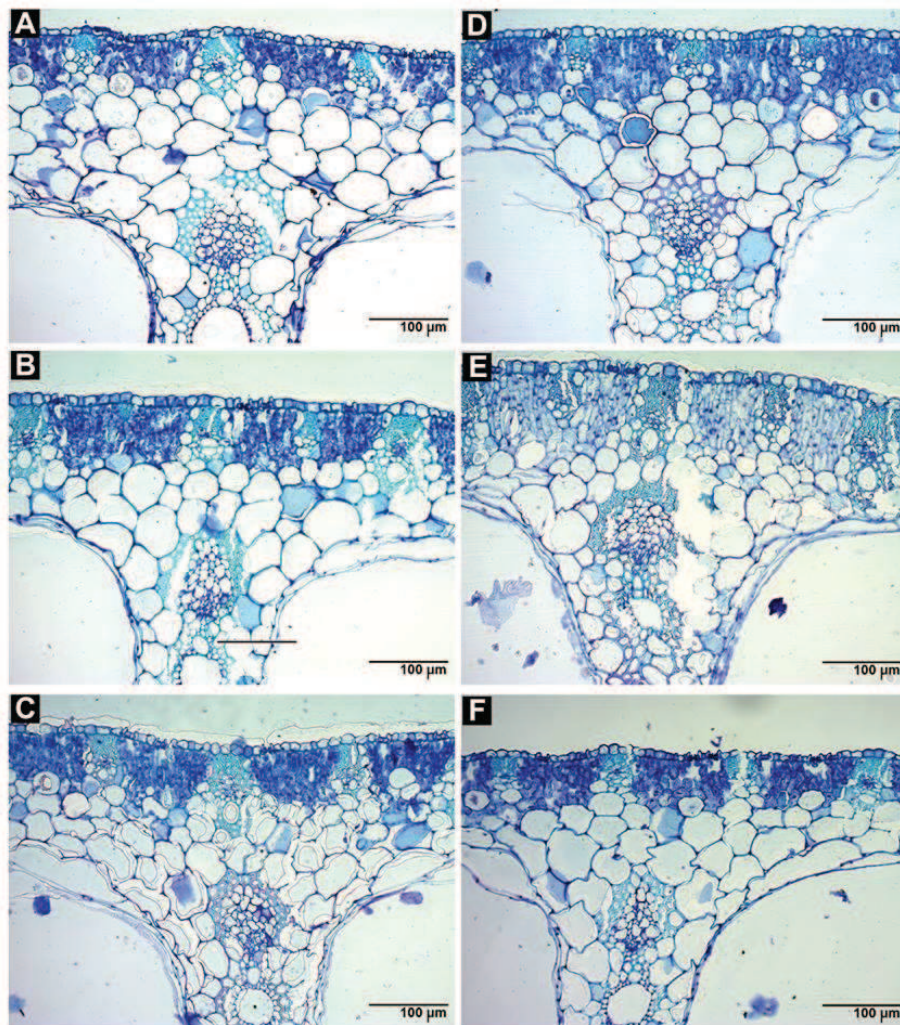


Figura 2 Secção transversal adaxial de folhas de *T. domingensis*, submetidas à concentrações crescentes de As. Com evidência os tecidos epidérmicos, parenquimáticos e feixe vascular (xilema/floema). A: Controle; B: 0,25 mg L⁻¹; C: 0,50 mg L⁻¹; D: 1,00 mg L⁻¹; E: 2,00 mg L⁻¹; F: 4,00 mg L⁻¹

Tabela 5 Característica foliar em secção transversal de *T. domingensis*, sob concentrações crescentes de arsênio (mg L^{-1})

As (mg L^{-1})	AE (%)	EP ABA(μm)	EP ADA(μm)	PP ABA(μm)	PP ADA(μm)
0,00	82,93 b	12,0206b	11,7080c	66,2140a	63,9998b
0,25	84,04 b	12,8998b	13,2027b	72,4587a	72,7281a
0,50	90,68 a	12,4562b	11,5432c	72,5199a	70,4444a
1,00	91,23 a	12,8993b	12,9628b	34,4566c	73,4245a
2,00	85,77 b	15,0479a	14,2644a	52,9319b	70,9446a
4,00	90,28 a	12,0207b	11,5397c	68,4018a	65,5971b

As médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si (Scott-Knott). AE= aerênquima; EP ABA= epiderme abaxial; EP ADA= epiderme adaxial; PP ABA= parênquima paliçádico abaxial; PP ADA= parênquima paliçádico adaxial.

Os resultados obtidos para a espessura da epiderme abaxial mostraram que esse tecido não sofreu alterações de sua espessura em presença do As. Os valores das espessuras nas plantas submetidas à presença do metaloide mantiveram-se equiparados aos valores das plantas controle, sendo que apenas na concentração 2 mg L^{-1} um relativo aumento na espessura foi registrado (Tabela 5). Os resultados das espessuras das epidermes da face adaxial mostraram que houve tendência em aumentar a espessura da epiderme à medida que as concentrações de As aumentaram. Esse aumento já é detectado a partir da segunda concentração ($0,25 \text{ mg L}^{-1}$) (Tabela 5).

O parênquima paliçádico da face abaxial mostrou variação em sua espessura nas concentrações de $1,00 \text{ mg L}^{-1}$ e $2,00 \text{ mg L}^{-1}$, apresentando os menores valores (Tabela 5). Nas demais concentrações, os valores não variaram estatisticamente entre si e nem entre as plantas-controle. Já os valores de parênquima paliçádico da face adaxial, tiveram seus valores aumentados já a partir da primeira concentração de As ($0,25 \text{ mg L}^{-1}$). Pode-se dizer que a espessura desse tecido tende a aumentar em presença do As.

Os resultados obtidos para a proporção de câmaras de aerênquima em folhas de *T. domingensis* mostraram que essa proporção aumenta juntamente

com as concentrações de As. As câmaras de ar de *T. domingensis* assumem a sua principal função, que é a de armazenar gases no interior da planta, como CO₂ e O₂, a fim de suprir a demanda de consumo dos mesmos, dentro da planta.

Em macrófitas aquáticas com estruturas fotossintetizantes verticais, que formam grandes adensamentos populacionais, a disposição dos tecidos clorofilianos é crucial para a manutenção das taxas fotossintéticas (DE LUCIA et al., 1991). A forma das células, compactação, posição de cloroplastos e das células clorofilianas são elementos importantes na manutenção da atividade fotossintética (NOBEL, 1991). Em folhas verticais de *Typha domingensis*, a distribuição equivalente de estômatos nas duas faces da folha, resulta no aumento do suplemento de CO₂, tanto para as células do mesofilo quanto para as células parenquimáticas que delimitam as câmaras (BOEGER; PIL; BELÉM FILHO, 2007).

Baseado nisso, pode-se inferir que o maior espessamento do parênquima paliádico, da epiderme da face adaxial e da proporção de câmaras de aerênquima das plantas submetidas ao As favoreceram maior fluxo de CO₂ e O₂ para as folhas, de forma que essas modificações favoreceram condições ideais à fotossíntese e a demanda de O₂ para os órgãos submersos fica assegurada.

Na raiz de *T. domingensis*, em secção transversal (Figura 3), observa-se epiderme uniestratificada, abaixo da qual ocorrem de 4 a 5 camadas contínuas de células da exoderme. O córtex é quase todo ocupado por aerênquima disposto radialmente. Duas camadas contínuas de células corticais se dispõem ao redor da endoderme (Figura 4). O cilindro vascular apresenta periciclo com uma camada de células, os elementos de vaso do metaxilema são de grande diâmetro e a medula com células esclerificadas. A endoderme apresentou espessamento bem definido, envolvendo o cilindro central densamente preenchido por elementos de vaso.

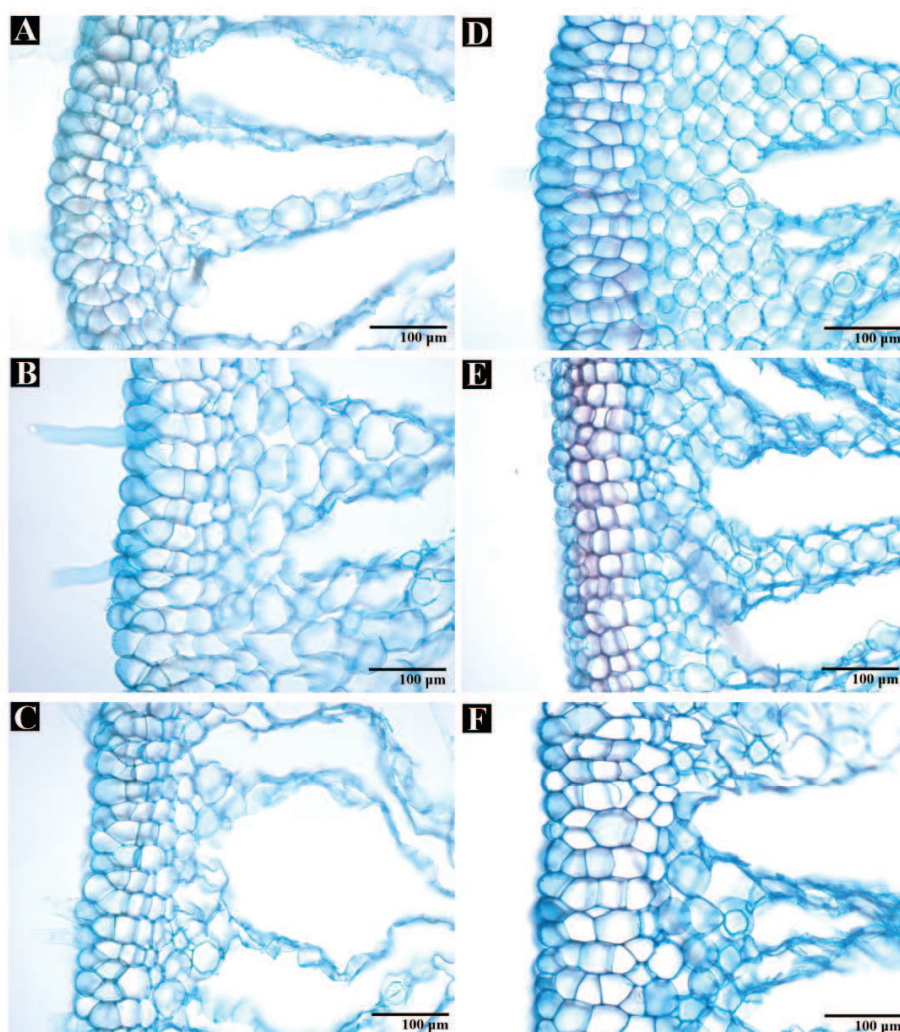


Figura 3 A-F Secção transversal de raiz de *Typha domingensis*. Em evidência a epiderme, exoderme, córtex. A- Controle; B- 0,25 mg L⁻¹; C- 0,50 mg L⁻¹; D- 1,00 mg L⁻¹; E- 2,00 mg L⁻¹; F- 4,00 mg L⁻¹

Nos resultados obtidos para a proporção de aerênquima nas raízes é possível verificar que houve aumento dessas proporções nas plantas submetidas às concentrações de As (Tabela 6).

Tabela 6 Características anatômicas em corte transversal de raízes de *T. domingensis*, submetidas à concentrações crescentes de As

As (Mg L ⁻¹)	AE(%)	Ep(μm)	Ed (μm)	Ex (μm)	Cx(μm)	Mx(μm)
0,00	47,55 b	8,9012 a	10,7917b	71,0860e	620,8452 b	40,1262c
0,25	60,99 a	9,3564 a	10,1690b	102,841d	539,5856 d	46,4582b
0,50	60,05 a	8,9525 a	9,7352c	94,3290d	420,3094 e	39,0120c
1,00	42,20 b	8,2962 b	9,6200c	123,608b	569,4822 c	30,0890d
2,00	62,46 a	5,7124 c	13,4647a	112,762c	633,0608 b	49,7487a
4,00	43,51 b	6,0207 c	8,8692d	147,708a	679,3853 a	38,5547c

As médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si (Scott-Knott 5%). AE= aerênquima; Ep= epiderme; Ed = endoderme; Ex = exoderme; Cx= córtex; Mx= metaxilema;

Os resultados para as medidas de aerênquima radicular relacionam-se aos valores de aerênquima apresentados nas folhas e ao que foi dito anteriormente sobre o fluxo de gases internos na planta. Para as menores proporções de aerênquima encontradas na raiz (Tabela 6), temos a maior proporção de aerênquima encontrada nas folhas (Tabela 5), que são nas concentrações 1,00 mg L⁻¹ e 4,00 mg L⁻¹. Os resultados obtidos apontam que o As pode interferir na formação das câmaras de ar dentro da planta, e que o aumento das proporções de aerênquima pode ser uma resposta adaptativa de *T. domingensis* à contaminação pelo metaloide. A maior proporção de aerênquima está diretamente ligada ao maior armazenamento de gases relacionados à fotossíntese dentro da planta. Dessa forma, a maior proporção de aerênquima encontrada pode estar relacionada a fatores de adaptação de *T. domingensis*, visando a manter os níveis de fotossíntese normais na presença do As.

A espessura da epiderme da raiz diminuiu à medida que as concentrações de As aumentaram (Tabela 6). Esses resultados mostram que a epiderme, primeiro tecido a entrar em contato com o As, sofreu modificações em sua estrutura, em decorrência da presença desse metaloide. Oliveira (2010) mostrou que, em presença de cádmio, a espessura da epiderme de *Pistia*

stratiotes não sofreu efeitos deletérios, mas que, em presença de maior concentração desse metal, a espessura da epiderme foi superior, quando comparada aos demais tratamentos. Pereira (2010) também não relatou prejuízos na espessura da epiderme radicular de plantas de aguapé, quando essas foram submetidas às concentrações de As.

Os resultados para a espessura da endoderme indicaram que há uma tendência de diminuição desse tecido em presença de As (Tabela 6). A literatura relata que, em condições de estresse por metal pesado, a espessura da endoderme tende a aumentar, funcionando como uma barreira apoplástica, impedindo que os íons metálicos alcancem outros órgãos da planta (GOMES et al., 2011).

Em contrapartida, os resultados da espessura de exoderme (Tabela 6), mostraram que esse tecido aumentou sua espessura, à medida que as concentrações de As aumentaram. A exoderme das raízes das plantas representa uma barreira apoplástica, com resistência variável ao fluxo radial de água e solutos e contribui de forma essencial para a resistência da planta a condições de estresse ambiental (HOSE et al., 2001).

Embora registrados menores valores para a espessura da endoderme à medida que as concentrações de As aumentaram, os valores obtidos para a espessura da exoderme são relevantes para se poder inferir que esse tecido foi a principal barreira apoplástica da planta, a fim de impedir que o As atingisse as folhas e, conseqüentemente, evitar maiores danos ao metabolismo do vegetal, como também, danos à fotossíntese. Pode-se dizer também que exoderme e endoderme trabalham juntas na proteção da planta contra o estresse por As. Pode-se inferir *T. domingensis* apresenta mecanismos de defesa compensatórios, pois, na concentração de 2,00 mg L⁻¹ (Tabela 6) o valor obtido de espessura da exoderme é o menor dentre as concentrações de As, enquanto que o valor de espessura da endoderme foi o maior valor registrado dentre as concentrações.

Para os resultados obtidos para a espessura do córtex (Tabela 6), observa-se que houve um decréscimo nas três primeiras concentrações e aumento registrado nas duas últimas concentrações. Esses valores não se mostraram completamente claros em relação à presença de As, no entanto, Oliveira (2013), sugere que a presença de As induz o crescimento da área do córtex, a fim de aumentar o número de células corticais para que o metaloide possa ser compartimentalizado e imobilizado nessas células. Essa resposta ao estresse impede que o As alcance os órgãos aéreos, sendo essa, uma característica de plantas acumuladoras de metais.

Os diâmetros dos vasos de xilema obtiveram seus menores valores nas concentrações 1,00 mg L⁻¹ e 4,00 mg L⁻¹ e 0,50 mg L⁻¹ (Tabela 6), respectivamente, e os maiores valores para as concentrações 2,00 mg L⁻¹ e 0,25 mg L⁻¹. Há uma evidência de que o arsênio tenha afetado o diâmetro dos vasos de xilema, porém não há uma relação muito clara com o aumento das concentrações. Ao passo que a quantidade de metaxilema no cilindro vascular aumentou, qualitativamente, em relação à planta controle. O aumento do diâmetro dos vasos de xilema pode também ser relacionado ao maior fluxo de água para dentro da planta, fato esse que pode ser relacionado à maior taxa transpiratória apresentada por *T. domingensis*, em presença do As.

Mufarrege et al. (2011), mostraram que a quantidade de vasos de metaxilema, foi consideravelmente maior em plantas de *T. domingensis*, que viviam sob condições de estresse salino.

Hadad et al. (2010) em seu estudo com *T. domingensis* que viviam em águas residuais na presença dos metais níquel, ferro, manganês, zinco e cobre, relataram que o diâmetro dos vasos do xilema foi maior que o das plantas que não viviam sob essa condição estressante.

Sandalio et al. (2001), relatam que metais pesados podem alterar o movimento de água nas plantas, reduzir o número e o tamanho dos vasos de

metaxilema, bem como alterar o balanço hormonal, visto que os hormônios estão estreitamente relacionados à morfogênese desses tecidos.

7 CONCLUSÕES

Conclui-se que a presença de arsênio nas soluções alterou de forma significativa o teor de clorofila, a condutância estomática, a transpiração e a densidade de estômatos. Entretanto, essas alterações não foram suficientes para afetar a fotossíntese.

O acréscimo na proporção de aerênquima da folha favoreceu o acúmulo de CO₂ e O₂ dentro do corpo da planta, o que auxiliou na manutenção da taxa fotossintética. Sendo essa uma resposta adaptativa da planta para manter sua sobrevivência na presença do As.

O decréscimo da espessura da epiderme da raiz mostrou que esse tecido, por ser o primeiro a entrar em contato com o contaminante, apresentou sintomas de toxidez, em presença do As.

O espessamento da exoderme mostrou que esse tecido foi a principal barreira apoplástica ,contra o entrada do As para a parte aérea da planta.

Portanto, o presente estudo concluiu que *T. domingensis* apresentou adaptações morfológicas e fisiológicas significativas para tolerar a presença de arsênio.

REFERÊNCIAS

ABDEL-GHANI, N. T.; HEGAZY, A. K.; EL-CHAGHABY, G. A. *Typha domingensis* leaf powder for decontamination of aluminium, iron, zinc and lead: Biosorption kinetics and equilibrium modeling. **International Journal of Environmental Science and Technology**, Oxford, v. 6, n. 2, p. 243-248, 2009.

ACCIOLY, A. M. A.; SIQUEIRA, J. O. Contaminação química e biorremediação do solo. **Tópicos em Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 1, p. 299-351, 2000.

ADRIANO, D. C. **Trace elements in the terrestrial environment: biogeochemistry, bioavailability and risks of metals**. New York: Springer, 2001. 867 p.

ANDERSON, T. A.; WALTON, B. T. Comparative fate of [¹⁴C] trichloroethylene in the root zone of plants from a former solvent disposal site. **Environmental Toxicology and Chemistry**, New York, v. 14, n. 12, p. 2041-2047, Dec. 1995.

BACANAMWO, M.; PURCELL, L. C. Soybean root morphological and anatomical traits associated with acclimation to flooding. **Crop Science**, Madison, v. 39, n. 1, p. 143-149, Jan. 1999.

BAIRD, C. **Química ambiental**. 2. ed. Porto Alegre: Bookman, 2002. 621 p.

BENZAOUA, M. et al. Kinetic tests comparison and interpretation for prediction of the Joutel tailings acid generation potential. **Environmental Geology**, Berlin, v. 46, n. 8, p. 1086-1101, Nov. 2004.

BOEGER, M. R. T.; PIL, M. W. B. O.; BELÉM FILHO, N. Arquitetura foliar comparativa de *Hedychium coronarium* J. Koenig (Zingiberaceae) e de *Typha domingensis* Pers (Typhaceae). **Iheringia. Série Botânica**, Porto Alegre, v. 62, n. 1/2, p. 113-120, 2007.

BRADSHAW, A. D. Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. In: CASPARY, E. M.; THODAY, J. M. (Ed.). **Advances in genetics**. New York: Academic, 1965. p. 115-155.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Resolução nº 357**, de 17 março de 2005. 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, e dá outras providências. Brasília, 2005. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=459>>. Acesso em: 10 dez. 2013.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Resolução nº 430**, de 13 de maio de 2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução nº 357, de 17 de março de 2005, do CONAMA. Brasília, 2011. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646>>. Acesso em: 10 dez. 2013.

CAMARGO, A. F. M.; PEZZATO, M. M.; HENRY-SILVA, A. Fatores limitantes à produção primária de macrófitas aquáticas. In: THOMAZ, S. M.; BINI, L. M. (Ed.). **Ecologia e manejo de macrófitas aquáticas**. Maringá: UEM, 2003. p. 59-72.

CASTRO, E. M.; PEREIRA, F. J.; PAIVA, R. **Histologia vegetal: estrutura e função de órgãos vegetativos**. Lavras: UFLA, 2009. 234 p.

CHANG, X. X.; WEN, C. H.; WANG, H. J. Effect of heavy metal pollution on human health and sustainable development. **Yunnan Environmental Science**, Kunming, v. 19, n. 1, p. 59-611, 2000.

CORDAZZO, C. V.; SEELIGER, U. **Guia ilustrado da vegetação costeira no extremo sul do Brasil**. Rio Grande: FURG, 1995. 275 p.

DAVIS, L. C. et al. Benefits of vegetation for soils with organic contaminants. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Boca Raton, v. 21, n. 5, p. 457-491, 2002.

ESTEVES, F. A. **Fundamentos de limnologia**. 2. ed. Rio de Janeiro: Interciência, 1998. 575 p.

FARIA, O. B. **Utilização de macrófitas aquáticas na produção de adobe: um estudo de caso no reservatório de Salto Grande, Americana, SP**. 2002. 199 p. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental) - Universidade de São Paulo, São Carlos, 2002.

FARNESE, F. S. et al. Evaluation of the potential of *Pistia stratiotes* L. (*water lettuce*) for bioindication and phytoremediation of aquatic environments contaminated with arsenic. **Brazilian Journal of Botany**, São Paulo, 2014. In press.

FAZELIAN, N.; ASRAR, Z.; KALANTARI, K. M. Effects of arsenic on the growth and oxidative stress in *Matricaria recutita* L. **Genetics and Plant Physiology**, Sofia, v. 2, n. 1/2, p. 73-81, Oct. 2012.

FERREIRA, D. F. **SISVAR 5.0**: sistema de análises estatísticas. Lavras: UFLA, 2007. Software.

FREITAS, M. **Efeitos da concentração de Zn e Mn nos efluentes da exploração de carvão na anatomia de *Typha domingensis* Pers. (Typhaceae) Criciúma, SC. 2007. 78 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) - Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 2007.**

GOMES, M. P. et al. Ecophysiological and anatomical changes due to uptake and accumulation of heavy metal in *Brachiaria decumbens*. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 68, n. 5, p. 566-573, Sept./Oct. 2011.

GUSMAN, G. S. et al. Arsenate and arsenite: the toxic effects on photosynthesis and growth of lettuce plants. **Acta Physiologiae Plantarum**, Copenhagen, v. 35, n. 4, p. 1201-1209, Apr. 2013.

HADAD, H. R. et al. Morphological response of *Typha domingensis* to an industrial effluent containing heavy metals in a constructed wetland. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v. 58, n. 3, p. 666-675, Apr. 2010.

HADAD, H. R.; MAINE, M.; BONETTO, C. A. Macrophyte growth in a pilot-scale constructed wetland for industrial wastewater treatment. **Chemosphere**, Oxford, v. 63, n. 10, p. 1744-1753, June 2006.

HEGAZY, A. K.; ABDEL-GHANI, N. T.; EL-CHAGHABY, G. A. Phytoremediation of industrial wastewater potentiality by *Typha domingensis*. **International Journal of Environmental Science and Technology**, Oxford, v. 8, n. 3, p. 639-648, 2011.

HENRY-SILVA, G. G.; CAMARGO, A. F. M. Avaliação sazonal da biomassa da macrófita aquática *Eichhornia azurea* em um rio de águas brancas da bacia hidrográfica do rio Itanhaém, litoral sul do Estado de São Paulo, Brasil. **Hoehnea**, São Paulo, v. 30, n. 1, p. 71-77, fev. 2003.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. **The water-culture method for growing plants without soil**. Berkeley: California Agricultural Experimental Station, 1950. 32 p. (Circular, 347).

HOSE, E. et al. The exodermis, a variable apoplastic barrier. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 52, n. 365, p. 2245-2264, Dec. 2001.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. 2nd ed. New York: Mc-Graw-Hill, 1940. 523 p.

KABATA-PENDIAS, A.; MUKHERJEE, A. B. **Trace elements from soil to human**. Berlin: Springer, 2007. 550 p.

KARENLAMPI, S. et al. Genetic engineering in the improvement of plants for phytoremediation of metal polluted soils. **Environmental Pollution**, Barking, v. 107, n. 2, p. 225-231, 2000.

KILE, M. L. et al. Dietary arsenic exposure in Bangladesh. **Environmental Health Perspectives**, Research Triangle Park, v. 115, n. 6, p. 889-893, June 2007.

KISSMANN, K. G.; GROTH, D. **Plantas infestantes e nocivas**. 2. ed. São Paulo: BASF, 2000. 726 p.

KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Rio de Janeiro: EDUR, 1997. 198 p.

LEWIS, M. A. Use of freshwater plants for phytotoxicity testing: a review. **Environmental Pollution**, Barking, v. 87, n. 3, p. 319-336, Mar. 1995.

LUCIA, E. H. de et al. Photosynthetic symmetry of sun and shade leaves of different orientations. **Oecologia**, Berlin, v. 87, n. 1, p. 51-57, 1991.

LUX, A. et al. Differences in structure of adventitious roots in *Salix* clones with contrasting characteristics of cadmium accumulation and sensitivity. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 120, n. 4, p. 537-545, Apr. 2004.

MELO, E. E. C. et al. Accumulation of arsenic and nutrients by castor bean plants grown on an As-enriched nutrient solution. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 168, n. 1, p. 479-483, Aug. 2009.

MELO, R. F. **Potencial de espécies vegetais para fitorremediação de um solo contaminado por arsênio**. 2006. 107 p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2006.

MISHRA, S.; JHA, A. B.; DUBEY, R. S. Arsenite treatment induces oxidative stress, upregulates antioxidant system, and causes phytochelatin synthesis in rice seedlings. **Protoplasma**, Karlsruhe, v. 248, n. 3, p. 565-577, July 2011.

MOJIRI, A. Phytoremediation of heavy metals from municipal wastewater by *Typha domingensis*. **African Journal of Microbiology Research**, Nairobi, v. 6, n. 3, p. 643-647, Jan. 2012.

MUFARREGE, M. M. et al. Adaptability of *Typha domingensis* to high pH and salinity. **Ecotoxicology**, New York, v. 20, n. 2, p. 457-465, Mar. 2011.

NASCIMENTO, K. J. T. **Fotossíntese, trocas gasosas e resposta antioxidativas em Canavalia ensiformis e Stizolobium aterrimum submetidas a níveis tóxicos de arsênio**. 2007. 36 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2007.

NOBEL, P. S. **Physicochemical and environmental plant physiology**. San Diego: Academic, 1991. 635 p.

NOGUEIRA, R. J. M. C. N. **Expressões fisiológicas em aceroleiras (*Malpighia emarginata* D.C.) em condições adversas**. 1997. 207 f. Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1997.

O'BRIEN, T. P.; FEDER, N.; MCCULLY, M. E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, Karlsruhe, v. 59, n. 2, p. 368-373, 1964.

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, C. **Mecanismos anatômicos, citológicos e fisiológicos de vetiver (*Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty) para a recuperação de ambientes aquáticos contaminados por cádmio e chumbo.** 2012. 219 p. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

O'NEILL, P. Arsenic. In: ALLOWAY, B. J. (Ed.). **Heavy metals in soils.** London: Blackie Academic & Professional, 1995. p. 107-121.

PEDRALLI, G. Macrófitas aquáticas como bioindicadoras da qualidade da água: alternativas para usos múltiplos de reservatórios. In: THOMAZ, S. M.; BINI, L. M. (Ed.). **Ecologia e manejo de macrófitas aquáticas.** Maringá: EDUEM, 2003. p. 171-185.

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.

PIL, M. W.; BOEGER, M. R. T. Características morfológicas foliares de *Hedychium coronarium* J. König (Zingiberaceae) e *Typha domingensis* Pers (Typhaceae): diferentes soluções para o mesmo problema. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 56., 2005, Curitiba. **Anais...** Curitiba: UFPR, 2005. 1 CD-ROM.

PIO, M. C. S.; SOUZA, K. S.; SANTANA, G. P. Capacidade da *Lemna aequinoctialis* para acumular metais pesados de água contaminada. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 43, n. 2, p. 203-210, 2013.

PIRES, F. R. et al. Fitorremediação de solos contaminados com herbicidas. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 21, n. 2, p. 335-341, 2003.

POMPÊO, M. L. L.; MOSCHINI-CARLOS, V. **Macrófitas aquáticas e perifiton: aspectos ecológicos e metodológicos.** São Paulo: RiMa, 2003. 134 p.

REITZ, R. **Tifáceas.** Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 1984. 16 p. (Flora Ilustrada Catarinense).

RIBEIRO JÚNIOR, E. S. **Adsorção e dessorção de arsênio em solos e substratos de mineração de ouro e práticas de mitigação de drenagem ácida em colunas de lixiviação.** 2002. 117 p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2002.

ROCHA, H. S. **Luz e sacarose na micropropagação da bananeira “Prata Anã”: alterações morfoanatômicas**. 2005. 98 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.

SANDALIO, L. M. et al. Cadmium-induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 52, n. 364, p. 2115-2126, Nov. 2001.

SANTOS, R. F.; CARLESSO, R. Déficit hídrico e os processos morfológicos e fisiológicos das plantas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 2, n. 3, p. 287-294, 1998.

SCHEINER, S. M. Genetics and evolution of phenotypic plasticity. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 24, p. 35-68, Nov. 1993.

SCHOEFS, B.; BERTRAND, M. Chlorophyll biosynthesis: a review. In: PESSARAKLI, M. (Ed.). **Handbook of photosynthesis**. London: Taylor & Francis, 2005. p. 57-93.

SETTI, A. A. et al. **Introdução ao gerenciamento de recursos hídricos**. Brasília: ANEEL; ANA, 2001. 207 p.

SHARMA, I. Arsenic induced oxidative stress in plants. **Biologia**, Lahore, v. 67, n. 3, p. 447-453, June 2012.

SILVA, K. L. F. **Avaliações de biomarcadores anatômicos e fisiológicos em plantas expostas ao arsênio**. 2008. 109 p. Tese (Doutorado em Botânica) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2008.

SIMOM, G. et al. Oxidation state of gold and arsenic pyrite. **American Mineralogist**, Washington, v. 84, n. 7, p. 1071-1079, July 1999.

SPYCHALLA, J. P.; DESBOROUGH, S. L. Superoxide dismutase, catalase and alpha-tocopherol content of stored potato tubers. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 94, n. 3, p. 1214-1218, July 1990.

SRIDHAR, B. B. M. et al. Anatomical changes due to uptake and accumulation of Zn and Cd in Indian mustard (*Brassica juncea*). **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 54, n. 2, p. 131-141, Sept. 2005.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. Davis: The Benjamin/Cummings, 1991. 565 p.

VAUGHAN, G. T. **The environmental chemistry and fate of arsenical pesticides in cattle tick dip sites and banana land plantations**. Melbourne: CSIRO, 1993. 123 p.

VIA, S. et al. Adaptive phenotypic plasticity: consensus and controversy. **Trends in Ecology and Evolution**, Amsterdam, v. 10, n. 5, p. 212-217, May 1995.

WANG, X. et al. Uptake and translocation of arsenite and arsenate by *Pteris vittata* L.: effects of silicon, boron and mercury. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 68, n. 2, p. 222-229, Apr. 2010.

WÓJCIK, M. et al. Cadmium tolerance in *Thlaspi caerulescens*. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 53, n. 2, p. 163-171, Apr. 2005.

ZHOU, Q. A. et al. Biomonitoring: an appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 606, n. 2, p. 135-150, 2008.

ZOCHE, J. J. **Comunidades vegetais de savana sobre estruturas mineralizadas de cobre na Mina Volta Grande, Lavras do Sul, RS**. 2002. 205 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2002.