

Eichhornia crassipes E METAIS: AVALIAÇÕES *IN LOCO* E
EXPERIMENTAIS DAS RESPOSTAS ECOLÓGICAS,
FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS EM RIOS FLUMINENSES.

MARIA ANGÉLICA DA CONCEIÇÃO GOMES

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE
DARCY RIBEIRO – UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
Outubro de 2016

Eichhornia crassipes E METAIS: AVALIAÇÕES *IN LOCO* E
EXPERIMENTAIS DAS RESPOSTAS ECOLÓGICAS, FISIOLÓGICAS
E BIOQUÍMICAS EM RIOS FLUMINENSES.

MARIA ANGÉLICA DA CONCEIÇÃO GOMES

“Tese apresentada ao Centro de Biociências e Biotecnologia, da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Ecologia e Recursos Naturais”.

Orientadora: Prof.Dr^a. Angela Pierre Vitória
Coorientadora: Prof. Dr^a. Marina Satika Suzuki

Campos dos Goytacazes
Outubro de 2016

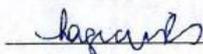
Eichhornia crassipes E METAIS: AVALIAÇÕES *IN LOCO* E
EXPERIMENTAIS DAS RESPOSTAS ECOLÓGICAS, FISIOLÓGICAS
E BIOQUÍMICAS EM RIOS FLUMINENSES.

MARIA ANGÉLICA DA CONCEIÇÃO GOMES

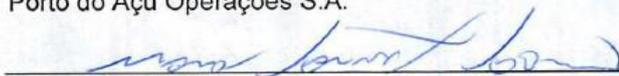
“Tese apresentada ao Centro de Biociências e Biotecnologia, da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Ecologia e Recursos Naturais”.

Aprovada em 14 de outubro de 2016

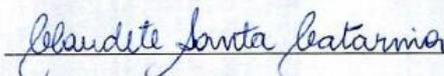
Comissão Examinadora:



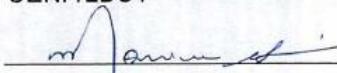
Dr.^a Lígia Ribas Macabu (Doutora em Ecologia e Recursos Naturais) –
Porto do Açu Operações S.A.



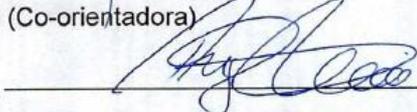
Prof. Marcos Sarmet Salomão (Doutor em Ciências) – UENF/LCA



Prof.^a Claudete Santa Catarina (Doutora em Biotecnologia) –
UENF/LBCT



Prof.^a Marina Satika Suzuki (Doutora em Biociências) – UENF/LCA
(Co-orientadora)



Prof.^a Dr.^a Angela Pierre Vitória (Doutora em Biologia e Produção
Vegetal) – UENF/LCA (Orientadora)

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca do Centro de Biociências e Biotecnologia
da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro

653 / 2016

Gomes, Maria Angélica da Conceição

Eschhornia crassipes e metais: avaliações *in loco* e experimentais das respostas ecológicas, fisiológicas e bioquímicas em rios fluminenses. / Maria Angélica da Conceição Gomes. -- Campos dos Goytacazes, 2016. ix, 102, [2] f. : il.

Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Biociências e Biotecnologia. Laboratório de Ciências Ambientais.

Área de concentração: Ecologia de organismos

Orientador: Vitória, Angela Pierre

Bibliografia: f. 13-26; 51-60; 77-85; 89-90

1. Hiperacumuladora 2. Cromo 3. Rendimento fotossintético
4. Antioxidantes I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro II. Título

581.7
G633e

“Quando você é bom com os outros, é melhor para você mesmo”.

(Felipe Aquino)

DEDICATÓRIA

*Aos meus pais,
José Reis e Maria Anita.*

AGRADECIMENTOS

Principalmente a Deus, que nos deu o dom da vida, fruto de sua imensa bondade. A Nossa Senhora e a São José a quem tantas vezes recorro nos momentos de dificuldades;

Agradeço aos meus pais José Reis e Maria Anita, pela educação que me deram, fruto de muito sacrifício, e por entenderem que almejo algo melhor para nós;

Agradeço à professora Angela Pierre Vitória pela orientação.

Agradeço à Professora Marina Satika Suzuki, pela paciência e amizade durante todos esses anos de orientação e co-orientação;

À professora Cristina Maria Magalhães de Souza pelos ensinamentos e pelas contribuições para o enriquecimento deste trabalho e para minha formação;

À professora Claudete Santa Catarina pelos conselhos, amizade e colaboração com o estudo de poliaminas;

Ao Victor Aragão pela dedicação e auxílio nas avaliações do conteúdo de poliaminas;

Ao Marcelo Almeida por auxiliar com as metodologias para determinação da concentração de metais;

Aos técnicos e professores do Laboratório de Ciências Ambientais;

Ao Gerson por todo apoio durante os trabalhos de campo;

Ao Jorge e a sua querida avó por acolher a mim e a Andresa com tanto carinho em sua casa durante os trabalhos no rio Pomba;

À Tássia e Vivian por ajudar na triagem e lavagem das plantas no laboratório e por todo apoio que me concederam.

À Andresa Bizzo pela amizade e parceria desde os trabalhos de mestrado.

Ao Fabrício Porto pela dedicação e imensa ajuda nos trabalhos de laboratório e análise estatística. Muito, muito obrigada!!!

À Tatiane e Milena pela amizade e conselhos que me ajudaram a não desistir.

À Rachel Hauser Davis por todas as colaborações em artigos e também pela amizade.

A todas amigas e amigos que colaboraram para minha formação
profissional e pessoal;
Muito obrigada a todos que rezaram por mim!!!

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	VI
LISTA DE FIGURAS.....	X
LISTA DE TABELAS.....	XI
RESUMO.....	XII
ABSTRACT.....	XIII
CAPÍTULO 1	1
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
1.1. Metais e ecossistemas aquáticos	
1.2. Cromo.....	
1.3. Sazonalidade.....	4
1.4. Macrófitas aquáticas e metais	6
1.5. Fitorremediação	8
1.6. Toxicidade nas plantas por metais	10
1.7. Produção de poliaminas em resposta ao estresse por metal	11
2. OBJETIVOS	12
2.1. Objetivos gerais.....	12
3. APRESENTAÇÃO DA TESE.....	13
• Capítulo I. Introdução	13
• Capítulo II. Fotossíntese e metais em <i>Eichornia crassipes</i> : variação sazonal e espacial em rios tropicais	13
• Capítulo III: Aumento da assimilação de C em <i>Eichornia crassipes</i> exposta a Cr ³⁺ : influência dos rios de origem, poliaminas e alterações ultraestruturais para a resposta ecofisiológica	13
• Capítulo IV. Discussão e conclusão geral.....	13
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	13
CAPÍTULO II: FOTOSSÍNTESE E METAIS EM <i>Eichornia crassipes</i> : VARIAÇÃO SAZONAL E ESPACIAL EM RIOS TROPICAIS	27
RESUMO.....	28
1. INTRODUÇÃO	29
2. MATERIAL E MÉTODOS	30
2.1. Material vegetal, período de amostragem, e locais de estudo	30
2.2. Determinação da concentração de metais em <i>E. crassipes</i>	33

2.3. Determinação da concentração de metais no material particulado em suspensão.....	34
2.4. Controle da qualidade	34
2.5. Medições ecofisiológicas.....	35
2.5.1. Trocas gasosas	35
2.5.2. Fluorescência da clorofila <i>a</i>	36
2.6. Análises estatísticas	36
3. RESULTADOS	36
3.1. Concentração de metais.....	36
3.2. Trocas gasosas	41
3.3. Fluorescência da clorofila <i>a</i>	42
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51

CAPÍTULO III: AUMENTO DA ASSIMILAÇÃO DE C EM *Eichornia crassipes*: INFLUÊNCIA DOS RIOS DE ORIGEM E POLIAMINAS PARA A RESPOSTA ECOFISIOLÓGICA..... 61

RESUMO.....	62
1. INTRODUÇÃO	63
2. MATERIAL E MÉTODOS	64
2.1. Material vegetal e locais de coleta	64
2.2. Condições experimentais	65
2.3. Determinação da concentração de Cr total	65
2.4. Controle da qualidade	66
2.5. Mensuração de trocas gasosas.....	66
2.6. Poliaminas.....	66
2.8. Análises estatísticas	67
3. RESULTADOS	68
3.1. Concentração de cromo	68
3.2. Trocas gasosas	68
3.3. Concentração de poliaminas	70
3.4. DISCUSSÃO	73
4. CONCLUSÕES	76
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77
CAPÍTULO IV	86
1. DISCUSSÃO GERAL	86
2. CONCLUSÕES	88

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	89
Anexo do Capítulo II: Fotossíntese e metais em <i>Eichornia crassipes</i> : Variação sazonal e espacial em rios tropicais.....	91
Anexo do Capítulo III: Aumento da assimilação de C em <i>Eichornia crassipes</i> exposta a Cr ³⁺ : influência dos rios de origem e poliaminas para a resposta ecofisiológica.....	93
Apêndice do Capítulo II: Fotossíntese e metais em <i>Eichornia crassipes</i> : Variação sazonal e espacial em rios tropicais.....	94
Apêndice do Capítulo III: Aumento da assimilação de C em <i>Eichornia crassipes</i> exposta a Cr ³⁺ : influência dos rios de origem e poliaminas para a resposta ecofisiológica.....	96

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO II: FOTOSSÍNTESE E METAIS EM *Eichornia crassipes*: VARIÇÃO SAZONAL E ESPACIAL EM RIOS TROPICAIS

Figura 1. Localização dos rios Paraíba do Sul (RPS), Muriaé e Pomba. 32

Figura 2. Espaço de ordenação dos componentes principais (PCA) em raízes (A) e folhas (B) de *Eichornia crassipes*. Concentrações de metais (Fe, Cr, Cu, Mg, Mn e Al) no rio Paraíba do Sul = triângulo, Muriaé = quadrado e Pomba = círculo. Estação seca = preto. Estação chuvosa = cinza 40

Figura 3. Média e desvio padrão dos parâmetros de trocas gasosas. A = Assimilação de CO₂ (A); g_s = condutância estomática (B), Ci = carbono interno (C) e E = transpiração (D) em *Eichornia crassipes* dos rios Paraíba do Sul (RPS), Muriaé (MR) e Pomba (PR) em agosto de 2012 (período seco = preto) e fevereiro de 2013 (período chuvoso = cinza). Letras maiúsculas = comparação entre os rios no mesmo período. Letras minúsculas = comparação entre os períodos no mesmo rio (p ≤ 0.05). N=10. 42

CAPÍTULO III: AUMENTO DA ASSIMILAÇÃO DE C EM *Eichornia crassipes* EXPOSTA A Cr³⁺: INFLUÊNCIA DOS RIOS DE ORIGEM E POLIAMINAS PARA A RESPOSTA ECOFISIOLÓGICA.

Figura 1. Média com desvio-padrão de A = Assimilação de CO₂ (A); g_s = condutância estomática (B), Ci = carbono interno (C) e E = transpiração (D) em *Eichornia crassipes* dos rios Paraíba do Sul (RPS), Muriaé (MR) e Pomba (PR) nos dias 0, 4 e 8 de exposição 1 mM Cr³⁺. Linhas cheias = controle. Linhas pontilhadas = 1mM Cr₂O₃. Letras em itálico = tratamento controle. Letras maiúsculas = comparação entre os tratamentos no mesmo tempo. Letras minúsculas = comparação do tempo para o mesmo tratamento. XYZ = comparação entre os rios, no mesmo tempo e tratamento. (p≤0,05). N = 6. ... 70

Figura 2. Concentração de poliaminas (µg g⁻¹ PF) nas folhas (A, B, C, G, H, I, N, O e P) e nas raízes (D, E, F, J, L, M, Q, R, S) de *E. crassipes* nos dias 0, 4 e 8 de exposição ao tratamento controle e 1mM de Cr₂O₃. PUT – Putrescina, SPD – Espermidina, SPM – Espermina. Linhas cheias: tratamento controle e linhas pontilhadas: 1mM de Cr₂O₃. Letras maiúsculas comparam entre os tratamentos, mesmo tempo e rio. Letras minúsculas comparam no tempo e no mesmo tratamento. XYZ comparam entre os rios, mesmo tempo e tratamento. * indica maior concentração de poliaminas entre folhas e raízes. (Manova). (P<0,005). N=5. FM= massa fresca. Letras em itálico representam o tratamento controle. 72

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II: FOTOSSÍNTESE E METAIS EM *Eichornia crassipes*: VARIAÇÃO SAZONAL E ESPACIAL EM RIOS TROPICAIS

- Tabela 1. Média dos parâmetros físico-químicos da água coletada nos rios Paraíba do Sul, Muriaé, e Pomba em agosto de 2012 (estação seca) e fevereiro de 2013 (estação chuvosa). 32
- Tabela 2. Concentrações de metais nas litologias dominantes na bacia de drenagem do complexo rio Paraíba do Sul (RPS) (Fonte: RadamBrasil, 1983). 33
- Tabela 3. Médias (\pm desvios padrões) da recuperação de metais (%) em folhas de maçã material de referência padrão de 1515 e de recuperação de metal (%) em referência sedimentos estuarinos material padrão 1646a, ambos fornecidos pelo Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (EUA). limites ICP-OES (Varian-720 ES, Alemanha) de detecção ($\mu\text{g g}^{-1}$) para material vegetal e sedimentos. 35
- Tabela 4. Média (\pm desvio-padrão) da concentração de Al, Fe, Mg, Mn, Cr, Cu em raízes e folhas de *E. Crassipes* e material particulado em suspensão (MPS) dos rios Paraíba do Sul, Muriaé e Pomba, Brasil, em agosto de 2012 (estação seca) e fevereiro de 2013 (estação chuvosa). Letras maiúsculas comparam entre os rios na mesma estação. Letras minúsculas comparam entre as estações no mesmo rio. * indica diferenças significativas nas concentrações de metais entre raízes e parte aérea ($P \leq 0.05$), plantas N=12; MPS N=3). 38
- Tabela 5. Média (\pm desvio-padrão) dos parâmetros de fluorescência da clorofila *a* de *Eichornia crassipes* oriundas dos rios Paraíba do Sul, Muriaé e Pomba em agosto de 2012 (estação seca) e fevereiro de 2013 (estação chuvosa). Fv/Fm = rendimento quântico máximo do fotossistema II; Fv/F0 = taxa variável da fluorescência mínima; qP = *quenching* fotoquímico; qNP = *quenching* não fotoquímico; NPQ = *quenching* não fotoquímico. Letras maiúsculas comparam entre os rios na mesma estação. Letras minúsculas comparam entre as estações no mesmo rio ($P \leq 0.05$). N=15 43
- Tabela 6. Concentrações de metais em *E. Crassipes* na região norte fluminense verificadas por outros autores. Estação seca (ES); Estação chuvosa (EC)..... 48

CAPÍTULO III: AUMENTO DA ASSIMILAÇÃO DE C EM *Eichhornia crassipes* EXPOSTA A Cr³⁺: INFLUÊNCIA DOS RIOS DE ORIGEM E POLIAMINAS PARA A RESPOSTA ECOFISIOLÓGICA.

Tabela 1. Concentração de Cr total ($\mu\text{g/g}^{-1}$) em folhas e raízes de *Eichhornia crassipes* dos rios Paraíba do Sul, Muriaé e Pomba, nos dias 0, 4 e 8 de exposição a Cr³⁺. Letras maiúsculas= comparação entre os tratamentos (mesmo tempo e rio). Letras minúsculas a e b = comparação entre os tempos (mesmo tratamento e rio). xyz = comparam entre os rios (mesmo tempo e tratamento). (P<0,005). N=6..... 68

RESUMO

A presença de metais em diversos ecossistemas tem aumentado em função de atividades antrópicas. *Eichhornia crassipes* (aguapé) é uma macrófita aquática hiperacumuladora de metais que tem sido amplamente estudada. Entretanto, os mecanismos ecológicos, anatômicos, fisiológicos e bioquímicos que a capacitam a tolerar e crescer na presença de metais ainda não estão totalmente elucidados. Frente ao exposto, esta tese teve como objetivos determinar 1) a presença de metais no material particulado em suspensão (MPS) e em raízes e parte aérea de *Eichhornia crassipes* de três rios do norte do estado do Rio de Janeiro (porção do baixo Paraíba do Sul, Muriaé e Pomba), assim como aspectos da ecofisiologia desta espécie (parte que compõem o Capítulo II) e 2) investigar o envolvimento das poliaminas e ultraestrutura foliar (dados em colaboração) na aquisição de C e na capacitação de tolerância a Cr^{3+} por esta espécie em experimentos realizados com indivíduos coletados nestes três rios (parte que compõem o Capítulo III). Para tanto, no Capítulo II foram aferidas as trocas gasosas e a fluorescência da clorofila *a* dessas macrófitas nos três rios durante a estação seca e chuvosa de 2012 e 2013. Amostras de raízes e parte aérea de *Eichhornia crassipes* e de MPS coletados nestas campanhas de campo tiveram suas concentrações de Al, Fe, Mg, Mn, Cr, Cu determinadas. No Capítulo III, 1 mM de Cr^{3+} foi adicionado experimentalmente em *Eichhornia crassipes* proveniente dos três rios. Posteriormente foram quantificados em raízes e parte áreas as concentrações de Cr^{3+} e as poliaminas (putrescina, espermidina e espermina), além de aferidas as trocas gasosas. Os dados do Capítulo II mostram que houve variação sazonal da presença de metais nas matrizes avaliadas. Independente do rio, na estação chuvosa a assimilação de C foi maior. Entretanto, não foi observada variação sazonal para a etapa fotoquímica da fotossíntese ou na concentração de metais no MPS que justificassem a redução da assimilação de C na estação seca, sugerindo limitação da abertura estomática na estação seca. A partir dos dados do Capítulo III, não foram obtidas evidências de que as alterações nas concentrações de poliaminas tenham contribuído para a melhoria do processo fotossintético na presença de Cr^{3+} . Possivelmente, as variações ultraestruturais (dados em colaboração)

foram as maiores envolvidas nesta resposta. Os dados apresentados nesta tese contribuem para a melhor compreensão da fisiologia de *Eichhornia crassipes*, um reconhecido modelo vegetal para estudos ecológicos e de tolerância a metais.

Palavras-chave: Hiperacumuladora, cromo, rendimento fotossintético, antioxidantes.

ABSTRACT

Eichhornia crassipes AND METALS: *IN LOCO* AND EXPERIMENTAL EVALUATION OF ECOLOGICAL, PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL RESPONSES IN RIVERS OF RIO DE JANEIRO STATE.

The presence of metals in several ecosystems has increased due to anthropogenic activities. *Eichhornia crassipes* (water hyacinth) is a metal hyperaccumulator aquatic macrophyte that has been broadly studied. However, ecological, anatomical, physiological and biochemical mechanisms that enable to tolerate and grow in the presence of metals are not yet completely elucidated. It has been suggested that Polyamines are involved in the maintenance of photosynthetic activity under abiotic stress. Thus, this thesis aimed 1) to evaluate the presence of metals in *Eichhornia crassipes* and suspended particulate matter (SPM) of the three rivers in northern Rio de Janeiro State (the lower Paraíba do Sul, Muriaé and Pomba), as well as physiological and ecology aspects of this species (Chapter II) and 2) to investigate the polyamines involvement in the acquisition of C and the training of tolerance to Cr³⁺ by this species in experiments with individuals collected in these three rivers (Chapter III). Therefore, in Chapter II, gas exchange and chlorophyll *a* fluorescence of this species were measured in the three rivers during the dry and rainy season. Roots and shoots of *Eichhornia crassipes* and SPM were collected from the rivers and Al, Fe, Mg, Mn, Cr, Cu concentrations were determined. In Chapter III, Cr³⁺ was added experimentally in *Eichhornia crassipes* plants taken from the three rivers. Subsequently, polyamines (putrescine, spermidine and spermine) and Cr³⁺ concentrations were quantified in roots and shoots and gas exchange were measured. Field data show that there was seasonal variation in the presence of metals in all evaluated matrices. Regardless of the river, the assimilation of C was higher in the rainy season. However, there was no seasonal variation for the photochemical step in

photosynthesis or in the concentration of metals in the SPM to justify the reduction of C assimilation in the dry season. The experimental data reiterated our previous data of increased C assimilation in the presence of Cr³⁺. However, there were no evidences that changes in polyamine concentrations contributed to the improvement of the photosynthetic process. The data presented in this thesis contribute to a better understanding of physiology in *Eichhornia crassipes*, a recognized model for ecological studies and tolerance to metals.

Keywords: Hyperaccumulator, chrome, photosynthetic performance, antioxidants.

CAPÍTULO 1

1. INTRODUÇÃO GERAL

1.1. Metais e ecossistemas aquáticos

Metais são frequentemente caracterizados e distinguidos dos não-metais por suas propriedades físicas como a capacidade de conduzir calor e resistência elétrica diretamente proporcional à temperatura, maleabilidade e ductilidade (Housecroft & Sharpe 2008). O limite da densidade de um metal é caracterizado em um intervalo de 3,5 a 7 g cm⁻³ (Duffus, 2002), e pertencem ao grupo de transição e não transição da tabela periódica (Chaves et al., 2014). De acordo com Thapa et al. (2012), os metais são elementos com uma densidade específica de pelo menos cinco vezes maior que a da água em temperatura de 1 a 4 °C (Chaves et al., 2014). Os metais são elementos eletropositivos e tendem a doar elétrons formando cátions (Baird, 2002). A toxicidade de um metal está relacionada a sua espécie, que consiste na forma química na qual esse elemento se encontra (Baird, 2002).

Os metais litogênicos ou de fontes primárias são mais estreitamente relacionados com a rocha matriz e, quando presentes no solo, permanecem ligados aos componentes originais, enquanto aqueles provenientes de fontes antropogênicas se associam de forma menos estável ao solo (Alloway, 1995). O aumento contínuo da área de solos e ecossistemas aquáticos contaminados por metais é uma grande preocupação em todo o mundo (Pandey & Singh, 2015). As fontes de metais podem ser naturais ou de atividades antropogênicas comumente denominada de fonte secundária (Yao et al., 2014; He et al., 2015). As fontes naturais incluem o vulcanismo e intemperismo e as fontes de atividades antropogênicas os efluentes industriais, esgotos domésticos, práticas agrícolas e mineração (Molisani et al., 1999; Yao et al., 2014). A contaminação por metais tem sido acelerada na sociedade moderna devido à industrialização e à intensificação da agricultura (He et al., 2015).

Os metais presentes no material abiótico dos rios podem estar na forma particulada em suspensão, no sedimento de fundo, na forma coloidal ou dissolvida, sendo constantemente redistribuídos entre os diferentes

compartimentos aquáticos durante o transporte fluvial (Shi et al., 1998; Peng et al., 2009).

Os metais são encontrados em todos os compartimentos do ambiente (água, ar, solo) (Jitar et al., 2015). No entanto, os ambientes marinho e de água doce tendem a concentrar maior quantidade de metais em comparação à atmosfera e o solo, devido ao ciclo da água que favorece o transporte de sedimentos e sua eliminação (Jitar et al., 2015). Por exemplo, a concentração de metais em um rio pode aumentar em função de fontes difusas (fertilizantes, defensivos agrícolas, etc.) e/ou de fontes pontuais (resíduos de estação de tratamento de esgoto, pequenas fábricas etc.) (Belluta et al. 2014; Jitar et al., 2015)

A concentração de metais em um corpo hídrico é influenciada por diversos fatores como o clima, geologia, tipo e uso de solo da bacia de drenagem, biota, pluviosidade, entre outros (Silva, 2008). Em geral, os metais nos sistemas aquáticos se associam ao material particulado em suspensão que é transportado ou decantado, podendo assim, incorporadas nos sedimentos (Harguinteguy et al., 2016). Em alguns casos, mais de 99% dos metais que entram em rios podem ser armazenados no sedimento em várias formas de ligação (Huang et al., 2012). Os metais encontram-se associados às partículas sob diversos mecanismos de ligação: (i) adsorvidos a sítios de trocas catiônicas (ii) co-precipitados com óxi-hidróxidos de ferro e manganês, carbonatos e sulfetos (iii) complexados com matéria orgânica e (iv) incorporados à rede cristalina de minerais detríticos, sendo essa última considerada de menor importância na mobilidade dos metais (Förstner & Whittmann, 1981). Com a variação das características físico-químicas da água, os metais presentes no sedimento podem ser remobilizados para água e tornar-se disponíveis para os organismos (Peng et al., 2009; Huang et al., 2012). Os sedimentos atuam como reservatórios de contaminantes em todos os sistemas aquáticos (Singh et al., 2005). Adicionalmente, os metais armazenados nos sedimentos têm o potencial de servir como fontes futuras de poluição (Varol & Sen, 2012). O sedimento pode ser ressuspensionado pelas chuvas, quando ocorre tempestades, tráfegos de barcos, dragagem corretiva e através de mudanças físico químicas geradas, os metais podem ser liberados para a coluna d' água onde eles podem ameaçar o ecossistema aquático (Je et al., 2007). A biodisponibilidade dos metais e a sua

acumulação nos organismos aquáticos dependem tanto de fatores abióticos (concentração de metal, pH, complexação com outros elementos, temperatura, condutividade, etc.), quanto de fatores bióticos (hábitos alimentares, troca de íons na superfície, atividade metabólica, etc.) (Allen et al., 1980; Marijić et al., 2006). Os metais tendem a se acumular em sedimentos, solos, água (Miretzky et al., 2004) e organismos vivos (Fu & Wang, 2011). Um dos principais metais poluentes que tem causado preocupação em função de seu aumento de concentração nos ecossistemas aquáticos é o cromo (Cr), que será abordado a seguir.

1.2. Cromo

A descoberta do cromo (Cr) ocorreu no final dos anos 1700 (Barnhart, 1997). O mineral crocoite contendo cromato de chumbo (PbCrO_4) foi descoberto em uma mina de ouro na Sibéria e foi usado primeiramente como um pigmento (Barnhart, 1997). Inicialmente o Cr ficou conhecido como chumbo vermelho da Sibéria, contudo, em 1798 o químico Francês Nicholas Louis Vauquelin conseguiu isolar o Cr, e intrigado com a gama de cores que este elemento poderia produzir, ele nomeou o cromo a partir da palavra grega (chroma) que significa cor (Emsley, 2011).

O Cr é o vigésimo primeiro elemento mais abundante da terra e o sexto mais abundante metal de transição (Mohan et al., 2006). O principal minério de Cr é o cromita férrico (FeCr_2O_4) e outras fontes incluem crocoite (PbCrO_4), e óxido de cromo, Cr_2O_3 (Silva et al., 2012). O cromo pode ser detectado em diversos estados de oxidação (Cr^{0+} , Cr^{1+} , Cr^{2+} , Cr^{3+} , Cr^{4+} , Cr^{5+} , Cr^{6+}) (Zayed et al., 1998; Santos et al., 2009; Augustynowicz et al., 2010).

O Cr é um metal encontrado no ecossistema como resultado da intemperização da crosta terrestre e deposições de resíduos de indústrias metalúrgicas (produção de aço e metais) (Castilhos et al., 2001) e indústrias químicas (pigmentos, galvanoplastia, curtumes e outros) (Kotás & Stasicka, 2000; Saha & Orvig, 2010). Entre todos os estados de oxidação do Cr, Cr^{3+} e Cr^{6+} são as mais estáveis em ambientes aquáticos e terrestres (Augustynowicz et al., 2010; Santos et al., 2009; Zayed et al., 1998), embora eles diferem em termos de mobilidade, biodisponibilidade e toxicidade (Panda e Choudhury, 2005). Por exemplo, sabe-se que o Cr está presente como íons trivalentes com

um pH entre 4,0 e 8,0 (de Barros, 2001) e que a redução de Cr^{6+} para Cr^{3+} é favorecida abaixo de pH 7 (Martins, 2009) e que a transformação de Cr^{3+} para Cr^{6+} geralmente ocorre a um pH acima de 8. De um modo geral, a oxidação de Cr^{3+} a Cr^{6+} é um processo muito lento no pH acima de 5 (Eary & Rai, 1987).

Em sistemas aquáticos, o Cr existe principalmente nos estados de oxidação de cromo hexavalente Cr^{6+} e cromo trivalente Cr^{3+} (Imai & Gloyana, 1990; Green et al., 2012). O Cr^{3+} é o estado de oxidação mais estável do cromo e tem menos mobilidade do que os compostos de Cr^{6+} (Mohan et al., 2006; Urrutia et al., 2008). Todavia, tanto Cr^{3+} quanto Cr^{6+} em elevadas concentrações são tóxicos para plantas e animais (Sreeram et al., 2004). A principal descarga de Cr^{3+} no ambiente ocorre através de resíduos provenientes da indústria de metal (Sreeram et al., 2004). O Cr^{3+} é um nutriente necessário para manutenção de atividades metabólicas em animais, mas pode ser um contaminante extremamente tóxico já que é muito estreita a faixa entre a sua necessidade e toxicidade para este elemento (Prochnow et al., 2012). Nos humanos, doses farmacológicas de Cr^{3+} podem auxiliar no tratamento de diabetes e doenças relacionadas, já o Cr^{6+} é um carcinógeno humano (Lay & Levina, 2012).

O conhecimento dos processos biológicos que afetam a mobilidade, distribuição e especiação química do Cr no ambiente físico e químico é essencial a fim de elaborar uma estratégia de remediação eficiente (Zayed et al., 2003). É sabido que fatores abióticos como sazonalidade, composição da bacia de drenagem e atividades antropogênicas alteram a concentração de Cr no ambiente.

1.3. Sazonalidade

As variações sazonais, simultaneamente a atividades agrícolas e escoamento de águas pluviais e despejo de esgotos *in natura* interferem na distribuição de metais no ecossistema aquático (Ouyang et al., 2006; Li & Zhang 2010; Xue-Feng et al., 2013). Na estação chuvosa, o fluxo de água nos rios aumenta, o que produz a diluição de contaminantes como os metais (Papafilippaki et al., 2008; Varol et al., 2013). No entanto, alguns metais de origem litológica, nesse período de predomínio de processos de escoamento superficial dos solos, podem ter a sua concentração aumentada nos rios

durante a estação chuvosa tais como Al e Fe (Fonseca et al., 2013). Metais de origem de atividades antropogênica chegam continuamente aos rios, entretanto as primeiras chuvas tendem a carrear o que foi liberado por várias fontes incluindo deposição atmosférica para calha do rio enquanto que os metais litogênicos são encontrados em maiores concentrações nos rios ao final da estação chuvosa porque precisam de um tempo para que a água e outros compostos reajam liberando-os (Fonseca et al., 2013).

Na estação seca, alguns metais, especialmente os de fonte de atividades antropogênicas como esgoto sanitário ou rejeitos industriais, tendem a aumentar suas concentrações nos rios devido a redução do volume e fluxo d'água (Li & Zhang, 2010; Varol et al., 2013). O principal processo que parece regular a variação sazonal são os efeitos de diluição causados pela alteração na fonte do material particulado em suspensão (entrada por escoamento ou entrada industrial) (Salomão et al., 2001).

No sedimento, a concentração de metais geralmente é maior na estação seca do que na chuvosa (Ma et al., 2015). No entanto, quando a coluna d'água passa por alguma perturbação, por exemplo, durante o aumento da vazão, ou mudanças físico químicas, os metais podem ser liberados ou dessorvidos do sedimento e passam para a coluna d'água (Ma et al., 2015).

A variação sazonal da temperatura da água dos sistemas aquáticos também influencia a disponibilidade dos metais através da atividade biológica (Li & Zhang, 2010). Adicionalmente, os metais dessorvidos dos sedimentos e materiais particulados em suspensão são potencialmente tóxicos para a biota (Ma et al., 2015). Assim, a sazonalidade também interfere na fisiologia fotossintética das plantas devido às mudanças na concentração de metais disponíveis, na intensidade da radiação solar, precipitação, temperatura, fotoperíodo e umidade do ar (Bonal et al., 2008; Bauerle et al., 2012). As variações na temperatura e intensidade da radiação solar são uma das principais causas de variações sazonais na fotossíntese e evapotranspiração (Bonal et al., 2008). Adicionalmente, o fotoperíodo no verão com 2 horas de luz solar a mais do que no inverno, com temperaturas e déficit de pressão de vapor (DPV) mais elevados (Ribeiro et al., 2009) também podem interferir na fisiologia das plantas (Bauerle et al., 2012).

1.4. Macrófitas aquáticas e metais

As macrófitas aquáticas são vegetais que durante sua evolução retornaram do ambiente terrestre para o aquático e são classificadas em diferentes tipos ecológicos: emersas; com folhas flutuantes; submersas enraizadas; submersas livres e flutuantes (Esteves, 1998).

As macrófitas aquáticas representam o componente mais importante da estrutura física de muitos sistemas aquáticos (Declerck et al., 2011). Entretanto, durante muitos anos as macrófitas aquáticas foram consideradas de pouca importância para o metabolismo dos ecossistemas aquáticos (Esteves, 1998). Com o aprofundamento do conhecimento, particularmente após estudos efetuados nas regiões tropicais, ficou evidenciado que nos ecossistemas aquáticos, as macrófitas contribuem para a produção primária formando uma parte fundamental da estrutura trófica (Esteves, 1998; Harguinteguy et al., 2014). Dentre as interações das macrófitas aquáticas com o ecossistema podemos citar: o fornecimento de abrigo para os peixes, invertebrados aquáticos e outros animais selvagens (Vardanyan & Ingole, 2006), o favorecimento da biodiversidade (Boyd, 1970; Barko et al., 1986), grande capacidade de absorção de poluentes, alteração do movimento da água (fluxo e intensidade de impacto das ondas), alteração da qualidade da água pelo fluxo regular de oxigênio e pela ciclagem de nutrientes e metais (Dhote & Dixit, 2009), entre outros.

As macrófitas aquáticas vivas ou mortas agem como biofiltradoras de contaminantes e poluentes tanto em zonas úmidas naturais como em tanques de tratamento de águas residuais oriundas de indústrias ou de áreas urbanas (Rai, 2009; Deng et al., 2013). As macrófitas aquáticas são particularmente importantes em estudos de poluição por metais, uma vez que a análise destas plantas pode dar uma indicação da qualidade do ambiente e da água (Shafi et al., 2015).

O potencial das macrófitas aquáticas para remoção de metais tem sido bastante relatado (Cheng, 2003; Weis & Weis, 2004). Entretanto, o potencial de fitorremediação de diferentes espécies de plantas aquáticas depende do nível de tolerância destas a toxicidade por metais (Sood & Ahluwalia, 2009). Muitas espécies são diferentes quanto à capacidade de acumular diferentes elementos nas raízes, caules e folhas (Kumar et al., 2008). Além disso, dentro de um

mesmo gênero ou espécie existe uma diferença de potencial de acumulação de metal que está relacionado a idade da planta e aos fatores ambientais como seus locais de origem, a composição química inicial do metal no ambiente e concentrações do metal, temperatura, pH, salinidade e a interação de diferentes metais pesados (Sood & Ahluwalia, 2009).

As macrófitas aquáticas senescentes também podem reter metais a partir da adsorção desses elementos nas suas estruturas ou da imobilização microbiana (Weis & Weis, 2004). O uso de plantas aquáticas secas para a remoção de metais como material biossorvente simples tem vantagens em sua alta eficiência no tratamento de efluentes devido ao seu baixo custo, conservação, transporte, manuseio e ausência de risco de contaminação ambiental (Miretzky et al., 2006).

Elevadas concentrações de metais que normalmente são tóxicas para outros organismos podem ser toleradas por algumas espécies de macrófitas aquáticas (Mishra e Tripathi, 2009) como, por exemplo, as dos gêneros *Eichhornia*, *Lemna*, *Azolla*, *Salvinia*, *Spartina* e *Typha* (Lesage et al., 2007; Dhir et al., 2009; Dhir e Srivastava, 2011). Embora, as macrófitas apresentem mecanismos de tolerância a metais (Marchand et al., 2010), alguns sintomas de toxicidade podem ocorrer (Yang & Ye, 2009). Dentre os sintomas de toxicidade por metais estão incluídos as alterações ultraestruturais, inibição da fotossíntese, alteração da capacidade de respiração (Zhou et al., 2008), aumento do volume do estroma nos cloroplastos (Lage-Pinto et al., 2008), necrose, perda de pêlos e redução do crescimento radicular (Rajkumar et al., 2009), a redução de pigmentos fotossintéticos (Paiva et al., 2009), alteração da atividade de enzimas antioxidantes (Dhir et al., 2009) e alteração na absorção de nutrientes (Burzyński & Żurek, 2007).

Apesar dos benefícios gerados pelas macrófitas aquáticas, sob condições favoráveis essas plantas possuem habilidade de colonizar muito rapidamente ambientes aquáticos podendo causar prejuízo aos múltiplos usos dos mesmos (Peixoto, et al., 2005; Silva et al., 2012). As proliferações indesejadas desses vegetais podem proporcionar condições desfavoráveis para outras espécies, que deixam de exercer uma pressão competitiva sobre ela (Thomaz & Bini, 2003). O crescimento excessivo de algumas macrófitas

pode comprometer importantes atividades como a pesca, a navegação e o potencial de produção hidroelétrica (Tundisi & Tundisi, 2008).

1.5. Fitorremediação

A fitorremediação vem da palavra grega *fito* que significa planta e a palavra *remedium* latina que significa equilíbrio ou remediação que descreve a capacidade das plantas em remover, transformar ou estabilizar contaminantes do ar, água, sedimentos, ou solos (Yaapar et al., 2008; Gomes et al., 2016). As plantas podem ser utilizadas para fitorremediação de metais através de diferentes processos fisiológicos que permitem a tolerância e a capacidade de absorção desses elementos (Pilon-Smits, 2005). A rizofiltração, fitoestabilização, fitoextração, fitovolatilização, fitotransformação, são os diferentes meios de fitorremediação (Halder & Ghosh 2014).

A rizofiltração é um processo utilizado por meio de macrófitas aquáticas em ecossistemas aquáticos (Dushenkov & Kapulnik, 2000; Dhir et al., 2009; Rai, 2009; Olguín et al., 2012). No entanto, outros autores relatam que a rizofiltração é um processo utilizado por plantas aquáticas e terrestres que usam de um biofiltro formado por microrganismos em suas raízes para absorver, concentrar e precipitar contaminantes como os metais pesados a partir da água (Salt et al., 1995; Monferrán et al., 2012).

Eichhornia crassipes tem um crescimento rápido e elevada capacidade de incremento da biomassa, além de um sistema radicular bem desenvolvido e fibroso (Liao & Chang 2004). Adapta-se facilmente a diferentes condições aquáticas e desempenha um importante papel na extração e acumulação de metais (Liao & Chang 2004). Assim, *E. crassipes* é considerada ideal para utilização na rizofiltração de metais, bem como outros elementos tóxicos a vários organismos aquáticos (Liao & Chang 2004). Em um estudo sobre fitorremediação de metais pesados por *E. crassipes* em Taiwan foi verificado que esta espécie é capaz de absorver elevadas concentrações de Cu, Zn, Ni, Pb e de acumular esses elementos principalmente nas raízes (Liao & Chang 2004). A concentração dos metais acumulados nas raízes de *E. crassipes* foi cerca de 3 a 15 vezes maior do que na parte aérea (Liao & Chang 2004).

A fitoestabilização consiste na utilização de plantas para imobilizar, por meio de atividades biológicas, metais, da água, solo, sedimento ou lodo (Ghosh & Singh, 2005). Isto ocorre através da absorção e adsorção ou precipitação nas raízes, reduzindo ou eliminando o risco para o ambiente, biota, e para a saúde humana (Ghosh & Singh, 2005; Ruttens et al., 2006; Abreu & Magalhães, 2009; Islam et al., 2013). Na fitoestabilização, os metais são incorporados à lignina da parede vegetal ou aos húmus do solo, precipitando os metais sob formas insolúveis (Mothé, 2012). Em uma pesquisa sobre o desempenho comparativo da biocumulação de metais por *Typha domingensis*, *Phragmites australis* (macrófitas aquáticas enraizadas) foi verificado que essas espécies podem ser utilizadas para fitoestabilização de Hg e As em sedimentos (Bonanno, 2013).

Na fitoextração ocorre a absorção de metais e outros contaminantes de solos, sedimentos ou água e a translocação dos elementos para parte aérea das plantas (Van Nevel et al., 2007). A fitoextração depende de plantas que translocam grandes quantidades de contaminantes para a parte aérea (Robinson et al., 2006). Em estudo sobre fitoextração de Cd por *Ipomoea aquática* em solução hidropônica foi verificado que essa planta é promissora na fitoextração de Cd, pois tem elevada capacidade de translocação desse metal para a parte aérea (Wang et al., 2008).

Fitovolatilização consiste na remoção de substâncias, como metais, a partir do solo ou de água com a liberação para a atmosfera através da transpiração, por vezes, como um resultado de fitotransformação para substâncias mais voláteis e/ou menos poluentes (Ghosh & Singh, 2005; Vardanyan et al., 2008; Cathrine & Navab, 2014). *Polypogon monspeliensis* é considerada uma espécie vegetal apropriada para fitorremediação de água e solo contaminados por arsênio (As), tanto a fitoextração quanto por fitovolatilização (Ruppert et al., 2013). No entanto, as formas mais tóxicas de As (arsenamina e trimetilarsênio) não foram fitovolatilizadas (Ruppert et al., 2013).

A fitotransformação ou fitodegradação refere-se a captação de contaminantes e nutrientes da água, sedimento ou solo e a sua modificação química como um resultado direto do metabolismo da planta, muitas vezes resultando em sua inativação, degradação do contaminante, ou imobilização (Pivetz, 2001; Tangahu et al., 2011; Vaziri et al., 2013; Pures et al., 2014).

Algumas espécies de plantas têm a capacidade de converter o Cr^{6+} a Cr^{3+} com a finalidade de reduzir os efeitos da fitotoxicidade, uma vez que o Cr^{3+} é menos móvel e menos tóxico do que o Cr^{6+} (Sen *et al.*, 1987., Shanker *et al.*, 2005).

1.6. Toxicidade nas plantas por metais

As plantas durante o seu ciclo de vida são expostas a uma variedade de estresses ambientais (Gill & Tuteja, 2010). Assim, as plantas desenvolveram estratégias para tolerar as condições adversas e seus efeitos negativos (Liu *et al.*, 2007). A interação direta de metais com componentes celulares pode iniciar uma variedade de respostas metabólicas levando ao final uma mudança no desenvolvimento das plantas que pode culminar com a morte ou tolerância das mesmas (Hayat *et al.*, 2012).

Alguns metais são considerados nutrientes essenciais, pois são necessários para o desenvolvimento adequado dos organismos (Taiz & Zaiger, 2009; Sinhá *et al.*, 2009; He *et al.*, 2015). Metais como o Zn, Cu, Fe, Mg, Co, Mn são essenciais para manter as funções celulares normais da maioria dos organismos (He *et al.*, 2015). Entretanto, a presença desses metais em excesso pode causar toxicidade (Clemens, 2006). Em contraste com os metais essenciais, os metais tóxicos tais como o Cd, Pb, Hg podem perturbar as funções celulares através da competição com metais essenciais nos seus locais de ligação e / ou através da alteração do estado redox de células (He *et al.*, 2015). A exposição de organismos a altas concentrações de metais tóxicos podem prejudicar as suas funções celulares, crescimento, reprodução e pode levar a morte (He *et al.*, 2015).

Os metais em elevadas concentrações podem interferir no crescimento, inibir o desenvolvimento das raízes e alterar: a anatomia das plantas, a produção de metabólitos secundários, o balanço hídrico, as trocas gasosas, absorção de nutrientes, o funcionamento dos cloroplastos e consequente inibição da biossíntese de clorofila, além de alterar atividades enzimáticas (Sharma *et al.*, 2005; Maksymiec, 2007; Nagajyoti *et al.*, 2010; Hemen, 2011; Kumar *et al.*, 2012).

A fotossíntese é um dos principais processos fisiológicos severamente afetado pelo estresse gerado por metais (Dhir *et al.*, 2009). Isto pode ocorrer pela alteração das funções da membrana do cloroplasto e componente da

cadeia de transporte de elétrons (Sytar et al., 2013). Os metais podem também inibir a biossíntese de clorofila *a* e *b* nas plantas (Rai et al., 2004) ou provocar a degradação dos pigmentos fotossintéticos através da peroxidação lipídica (Somashekaraiah, 1992). Os carotenóides, pigmentos acessórios da fotossíntese, que também atuam na proteção contra a foto-oxidação podem ter a sua concentração reduzida a depender da concentração do metal (Rai et al., 2004). A redução dos pigmentos fotossintéticos por metais ocorre através da inibição da atividade de enzimas envolvidas na biossíntese da clorofila (Assche & Clijsters, 1990). A substituição do íon Mg central da molécula de clorofila por outro metal prejudica a recepção de luz e resulta no colapso da atividade fotossintética (Prasad & Strzalka, 1999; Küpper et al., 2002).

Enzimas do ciclo de Calvin podem ter sua atividade inibida, resultando em acúmulo de ATP e NADPH. Isto interfere na transferência de elétrons e aumenta o gradiente de prótons transtilacoidal (Siedlecka & Krupa, 2004). Elevadas concentrações de metais afetam o fotossistema II (FSII) que é um complexo constituído por várias proteínas e está localizado nos tilacóides das plantas com atuação na regulação do processo fotossintético (Barber, 2002; Maksymiec et al., 2008).

Estudos comprovaram que o Cr interfere nos parâmetros de trocas gasosas: assimilação de carbono (*A*), condutância estomática (*g_s*), carbono interno (*C_i*) e evapotranspiração (*E*) (Venay et al., 2007; Rodriguez et al., 2012). A variação das trocas gasosas depende da concentração e do metal as quais as plantas são expostas. Pesquisas realizadas com *E. crassipes* exposta a Cr³⁺ (Paiva et al., 2009) e As (Pereira et al., 2011) mostraram maior assimilação de carbono em comparação com as plantas controle. Os mecanismos que capacitam esta melhoria fotossintética ainda não estão completamente compreendidos, mas é possível que moléculas como as poliaminas estejam envolvidas, uma vez que conferem estabilidade aos fotossistemas na presença de metais (Hussain et al., 2011).

1.7. Produção de poliaminas em resposta ao estresse por metal

As poliaminas (PAs) são compostos alifáticos de nitrogênio, de baixo peso molecular (em torno de 100 g/mol) com dois ou mais grupos amino e presente em todos os organismos vivos (Groppa & Benavides, 2008). Elas

possuem cargas positivas em seus átomos de nitrogênio, facilitando a sua interação com moléculas de DNA, RNA e fosfolipídios (Baron & Stasolla, 2008).

Síntese de PUT pode ocorrer via arginina-descarboxilase ou ornitina descarboxilase em cianobactérias, algas microscópicas, e macrófitas aquáticas (Schweikert & Burritt, 2015). As atividades de ambas as enzimas parecem ser dependentes do estado de desenvolvimento e das condições ambientais as quais os vegetais e algas são expostos (Schweikert & Burritt, 2015).

Estudos mostram o importante papel das PAs em vários processos biológicos associados ao crescimento e desenvolvimento da planta sob condições de estresse bióticos e abióticos (Kaur-Sawhney, 2003; Nayyar & Chander 2004; Kusano et al., 2008). As PAs também estão envolvidas na regulação gênica, estabilização da proliferação celular, na modulação da sinalização celular e da membrana, além da modulação da atividade de certos conjuntos de canais iônicos (Kusano et al., 2008). A concentração de PAs nas plantas varia de acordo com a espécie, órgãos e tecidos, além da fase de desenvolvimento (Kuznetsov et al., 2007). As PAs estão associadas a estresses abióticos (Alcázar et al., 2011; Bitrián et al., 2012), e seu teor pode ser alterado em resposta à exposição a metais (Sharma & Dietz, 2006; Hussain et al., 2011). Adicionalmente, é sabido que as poliaminas atuam nos cloroplastos e no FSII, e que o centro de reação do FSII é rico em espermina (SPM) (Navakoudis et al., 2003). As PAs exercem um papel positivo na fotossíntese das plantas em resposta a vários estresses ambientais (Shu et al., 2012). Em alguns casos, são verificadas a participação das PAs em plantas sob estresse por metais ou lesões oxidativas (Mandal et al., 2016).

A poluição em ecossistemas aquáticos exige respostas aclimatativas das macrófitas aquáticas. Assim, o conhecimento dos processos fisiológicos que conferem tolerância ao estresse ambiental deve ser aprofundado com vistas a viabilizar a manutenção desses ecossistemas.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivos gerais

Este trabalho teve como objetivo avaliar a influência sazonal e espacial (rios Paraíba do Sul, Muriae e Pomba) na ecofisiologia (estudos conduzidos no

campo) e nas respostas fisiológicas a Cr^{3+} (estudos conduzidos em casa de vegetação) em *Eichornnia crassipes* para responder a seguintes questões:

3. APRESENTAÇÃO DA TESE

Visando alcançar os objetivos propostos, esta tese está apresentada da seguinte maneira:

- Capítulo I. Introdução
- Capítulo II. Fotossíntese e metais em *Eichornnia crassipes*: variação sazonal e espacial em rios tropicais
- Capítulo III: Aumento da assimilação de C em *Eichornnia crassipes* exposta a Cr^{3+} : influência dos rios de origem, poliaminas e alterações ultraestruturais para a resposta ecofisiológica
- Capítulo IV. Discussão e conclusão geral

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abreu, M. M., & Magalhães, M. C. F. (2009). Phytostabilization of soils in mining areas. Case studies from Portugal. *Soil Remediation*, 297-344.
- Abreu, M. M., Santos, E. S., Ferreira, M., & Magalhães, M. C. F. (2012). *Cistus salviifolius* a promising species for mine wastes remediation. *Journal of Geochemical Exploration*, 113: 86-93.
- Alcázar, R., Bitrián, M., Bartels, D., Koncz, C., Altabella, T., & Tiburcio, A. F. (2011). Polyamine metabolic canalization in response to drought stress in *Arabidopsis* and the resurrection plant *Craterostigma plantagineum*. *Plant Signaling & Behavior*, 6(2): 243-250.
- Allen, H. E., Hall, R. H., & Brisbin, T. D. (1980). Metal speciation. Effects on aquatic toxicity. *Environmental Science & Technology*, 14(4): 441-443.
- Alloway, B.J. (1995). *Heavy metals in soils*. London: Springer Science & Business Media. 368p.

- Assche, F. V., & Clijsters, H. (1990). Effects of metals on enzyme activity in plants. *Plant, Cell & Environment*, 13(3): 195-206.
- Augustynowicz, J., Grosicki, M., Hanus-Fajerska, E., Lekka, M., Waloszek, A., & Kołoczek, H. (2010). Chromium (VI) bioremediation by aquatic macrophyte *Callitriche cophocarpa* Sendtn. *Chemosphere*, 79(11): 1077-1083.
- Baird, C. *Química ambiental*. Trad. M.A.L. Recio e L.C.M. Carrera. 2. ed. Porto Alegre: Bookman, 2002.
- Barber, J. (2002). Photosystem II: a multisubunit membrane protein that oxidises water. *Current Opinion in Structural Biology*, 12(4): 523-530.
- Barko, J. W., & Smart, R. M. (1986). Sediment-related mechanisms of growth limitation in submersed macrophytes. *Ecology*, 1328-1340.
- Barnhart, J. (1997). Chromium chemistry and implications for environmental fate and toxicity. *Soil and Sediment Contamination*, 6(6): 561-568.
- Baron, K., & Stasolla, C. (2008). The role of polyamines during *in vivo* and *in vitro* development. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 44(5): 384-395.
- Bauerle, W. L., Oren, R., Way, D. A., Qian, S. S., Stoy, P. C., Thornton, P. E., & Reynolds, R. F. (2012). Photoperiodic regulation of the seasonal pattern of photosynthetic capacity and the implications for carbon cycling. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(22): 8612-8617.
- Bitrián, M., Zarza, X., Altabella, T., Tiburcio, A. F., & Alcázar, R. (2012). Polyamines under abiotic stress: metabolic crossroads and hormonal crosstalks in plants. *Metabolites*, 2(3): 516-528.
- Bonanno, G. (2013). Comparative performance of trace element bioaccumulation and biomonitoring in the plant species *Typha domingensis*, *Phragmites australis* and *Arundo donax*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 97, 124-130.
- Boyd, C.E. 1970. Aminoacid, protein and caloric content for water vascular stress aquatic macrophytes. *Ecology*, 51(5): 902-906.
- Castilhos, D. D., Guadagnin, C., Silva, M., Leitske, V., Ferreira, L., & Nunes, M. (2001). Acúmulo de cromo e seus efeitos na fixação biológica de nitrogênio e absorção de nutrientes em soja. *Current Agricultural Science and Technology*, 7(2): 121-124.

- Cathrine, L. F., & Navab, M. (2014). Soil decontamination with using garden cress. *Journal of Scientific Research and Development*, 1 (1): 1-6.
- Chaves, R. C. D. P. (2014). *Avaliação do teor de metais na água distribuída na cidade de Lavras-MG*. Dissertação (Mestrado em Agroquímica): Lavras-MG, Universidade Federal de Lavras, 55p.
- Cheng, S. (2003). Heavy metals in plants and phytoremediation. *Environmental Science and Pollution Research*, 10(5): 335-340.
- Clemens, S., Palmgren, M. G., & Krämer, U. (2002). A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation. *Trends in plant science*, 7(7): 309-315.
- Declerck, S. A., Bakker, E. S., van Lith, B., Kersbergen, A., & van Donk, E. (2011). Effects of nutrient additions and macrophyte composition on invertebrate community assembly and diversity in experimental ponds. *Basic and Applied Ecology*, 12(5): 466-475.
- Deng, P. Y., Liu, W., Zeng, B. Q., Qiu, Y. K., & Li, L. S. (2013). Sorption of heavy metals from aqueous solution by dehydrated powders of aquatic plants. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 10(3): 559-566.
- Dhir, B., & Srivastava, S. (2011). Heavy metal removal from a multi-metal solution and wastewater by *Salvinia natans*. *Ecological Engineering*, 37(6): 893-896.
- Dhir, B., Sharmila, P., & Saradhi, P. P. (2009). Potential of aquatic macrophytes for removing contaminants from the environment. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 39(9): 754-781.
- Dhote, S., & Dixit, S. (2009). Water quality improvement through macrophytes—a review. *Environmental Monitoring and Assessment*, 152(1-4): 149-153.
- Duffus, J. H. (2001). Heavy metals— a meaningless term? *Chemistry International*, 23(6): 793-807
- Dushenkov, S. (2000). Phytofiltration of metals. In: Raskin, I., Ensley B.D. (eds.). *Phytoremediation of toxic metals—using plants to clean-up the environment*. John Wiley and Sons, Inc. New York, 160(5): 89–106.
- Eary L E and Rai D. (1987) Kinetics of Cr(III) oxidation by manganese dioxide. *Environmental Science & Technology* 21, 1187–1193.

- Emsley, J. (2011). *Nature's building blocks: an AZ guide to the elements*. Oxford University Press. p.7
- Esteves, F. A. (1998). *Fundamentos de limnologia*. 2^o Ed. Rio de Janeiro: Interciência, 602p.
- Fonseca, E. M., Neto, J. B., Silva, C. G., McAlister, J. J., Smith, B. J., & Fernandez, M. A. (2013). Stormwater impact in Guanabara Bay (Rio de Janeiro): Evidences of seasonal variability in the dynamic of the sediment heavy metals. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 130: 161-168.
- Forstner U, Wittmann GTW. Metal Pollution in the Aquatic Environment. Berlin: Springer-Verlag, 1981:486.
- Fu, F., & Wang, Q. (2011). Removal of heavy metal ions from wastewaters: a review. *Journal of Environmental Management*, 92(3): 407-418.
- Ghosh, M., & Singh, S. P. (2005). A review on phytoremediation of heavy metals and utilization of it's by products. *Asian Journal on Energy and Environment*, 6(4): 18.
- Green, P. G., Darby, J., & Laybourne, S. (2012). Effects of Storage Conditions on Chromium (III) and Chromium (VI) in Two Types of Potable Water. *Journal of Environmental Engineering*, 139(2): 302-306.
- Groppa, M. D., & Benavides, M. P. (2008). Polyamines and abiotic stress: recent advances. *Amino acids*, 34(1): 35-45.
- Halder, S., & Ghosh, S. (2014). Wetland macrophytes in purification of water. *International Journal of Environmental Sciences*, 5(2): 432-437.
- Harguinteguy, C. A., Cofré, M. N., Fernández-Cirelli, A., & Pignata, M. L. (2016). The macrophytes *Potamogeton pusillus* L. and *Myriophyllum aquaticum* (Vell.) Verdc. as potential bioindicators of a river contaminated by heavy metals. *Microchemical Journal*, 124: 228-234.
- Hayat, S., Khalique, G., Irfan, M., Wani, A. S., Tripathi, B. N., & Ahmad, A. (2012). Physiological changes induced by chromium stress in plants: an overview. *Protoplasma*, 249(3): 599-611.
- He, B., Ling, L., Zhang, L., Li, M., Li, Q., Mei, X. & Tan, L. (2015). Cultivar-specific differences in heavy metal (Cd, Cr, Cu, Pb, and Zn) concentrations in water spinach (*Ipomoea aquatic 'Forsk'*) grown on metal-contaminated soil. *Plant and soil*, 386(1-2): 251-262.

- He, D., Ren, L., & Wu, Q. L. (2014). Contrasting diversity of epibiotic bacteria and surrounding bacterioplankton of a common submerged macrophyte, *Potamogeton crispus*, in freshwater lakes. *FEMS Microbiology Ecology*, 90(3): 551-562.
- Housecroft, C.E, Sharpe, A.G. (2008). *Inorganic chemistry*. Prentice Hall, Harlow.
- Huang, J., Ge, X., & Wang, D. (2012). Distribution of heavy metals in the water column, suspended particulate matters and the sediment under hydrodynamic conditions using an annular flume. *Journal of Environmental Sciences*, 24(12): 2051-2059.
- Hussain, S. S., Ali, M., Ahmad, M., & Siddique, K. H. (2011). Polyamines: natural and engineered abiotic and biotic stress tolerance in plants. *Biotechnology advances*, 29(3): 300-311.
- Imai, A., & Gloyna, E. F. (1990). Effects of pH and oxidation state of chromium on the behavior of chromium in the activated sludge process. *Water Research*, 24(9): 1143-1150.
- Islam, M. S., Saito, T., & Kurasaki, M. (2015). Phytofiltration of arsenic and cadmium by using an aquatic plant, *Micranthemum umbrosum*: Phytotoxicity, uptake kinetics, and mechanism. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 112: 193-200.
- Islam, M. S., Ueno, Y., Sikder, M. T., & Kurasaki, M. (2013). Phytofiltration of arsenic and cadmium from the water environment using *Micranthemum umbrosum* (JF Gmel) SF Blake as a hyperaccumulator. *International Journal of Phytoremediation*, 15(10): 1010-1021.
- Je, C. H., Hayes, D. F., & Kim, K. S. (2007). Simulation of resuspended sediments resulting from dredging operations by a numerical flocculent transport model. *Chemosphere*, 70(2): 187-195.
- Liao, S. W., & Chang, W. L. (2004). Heavy metal phytoremediation by water hyacinth at constructed wetlands in Taiwan. *Photogramm. Eng. Remote Sensing*, 54, 177-185.
- Kaur-Sawhney, R., Tiburcio, A. F., Altabella, T., & Galston, A. W. (2003). Polyamines in plants: an overview. *J Cell Mol Biol*, 2: 1-12.
- Kotaś, J., & Stasicka, Z. (2000). Chromium occurrence in the environment and methods of its speciation. *Environmental pollution*, 107(3): 263-283.

- Kumar, C., & Mani, D. (2012). *Advances in bioremediation of heavy metals: a tool for environmental restoration*. Lambert Academic Publishing. 27-31.
- Kumar, S., & Joshi, U. N. (2008). Nitrogen metabolism as affected by hexavalent chromium in sorghum (*Sorghum bicolor* L.). *Environmental and Experimental Botany*, 64(2): 135-144.
- Küpper, H., Šetlík, I., Spiller, M., Küpper, F. C., & Prášil, O. (2002). Heavy metal-induced inhibition of photosynthesis: targets of *in vivo* heavy metal chlorophyll formation. *Journal of Phycology*, 38(3): 429-441.
- Kusano, T., Berberich, T., Tateda, C., & Takahashi, Y. (2008). Polyamines: essential factors for growth and survival. *Planta*, 228(3): 367-381.
- Kuznetsov, V. V., & Shevyakova, N. I. (2007). Polyamines and stress tolerance of plants. *Plant Stress*, 1(1): 50-71.
- Lage-Pinto, F., Oliveira, J. G., Da Cunha, M., Souza, C. M., Rezende, C. E., Azevedo, R. A., & Vitória, A. P. (2008). Chlorophyll a fluorescence and ultrastructural changes in chloroplast of water hyacinth as indicators of environmental stress. *Environmental and Experimental Botany*, 64(3): 307-313.
- Lay, P. A., & Levina, A. (2012). Chromium: biological relevance. *Encyclopedia of Inorganic and Bioinorganic Chemistry*.
- Lesage, E., Mundia, C., Rousseau, D. P. L., Van de Moortel, A. M. K., Du Laing, G., Meers, E., ... & Verloo, M. G. (2007). Sorption of Co, Cu, Ni and Zn from industrial effluents by the submerged aquatic macrophyte *Myriophyllum spicatum* L. *Ecological engineering*, 30(4): 320-325.
- Li, S., & Zhang, Q. (2010). Risk assessment and seasonal variations of dissolved trace elements and heavy metals in the Upper Han River, China. *Journal of Hazardous Materials*, 181(1): 1051-1058.
- Liu, Q., & Yao, H. (2007). Antioxidant activities of barley seeds extracts. *Food Chemistry*, 102(3): 732-737.
- Ma, S. C., Zhang, H. B., Ma, S. T., Wang, R., Wang, G. X., Shao, Y., & Li, C. X. (2015). Effects of mine wastewater irrigation on activities of soil enzymes and physiological properties, heavy metal uptake and grain yield in winter wheat. *Ecotoxicology and environmental safety*, 113: 483-490.
- Ma, Y., Qin, Y., Zheng, B., Zhang, L., & Zhao, Y. (2015). Seasonal variation of enrichment, accumulation and sources of heavy metals in suspended

- particulate matter and surface sediments in the Daliao River and Daliao River estuary, Northeast China. *Environmental Earth Sciences*, 73(9): 5107-5117.
- Maksymiec, W. (2007). Signaling responses in plants to heavy metal stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 29(3): 177-187.
- Maksymiec, W., Drazkiewicz, M., & Skorzynska-Polit, E. (2008). Responses of higher plants to heavy metal stress. *Nafees A. Khan and Sarvajeet Singh (Eds.):* 139-163.
- Mandal, C., Bera, S., Dey, N., & Adak, M. (2016). Physiological alterations of *Salvinia natans* L. exposed to aluminium stress and its interaction with polyamine. *Plant Science Today*, 3(2), 195-206.
- Marchand, L., Mench, M., Jacob, D. L., & Otte, m. L. 2010. Metal and metalloid removal in constructed wetlands, with emphasis on the importance of plants and standardized measurements: a review. *Environmental pollution*, 158(12): 3447-3461.
- Marijić, V. F., & Raspor, B. (2006). Age-and tissue-dependent metallothionein and cytosolic metal distribution in a native Mediterranean fish, *Mullus barbatus*, from the Eastern Adriatic Sea. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 143(4): 382-387.
- Martins, V. (2009). Eficiência agrônômica de hidrolisado de couro e resíduo de recurtimento. Dissertação submetida a Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.127p.
- Miretzky, P., Saralegui, A., & Cirelli, A. F. (2004). Aquatic macrophytes potential for the simultaneous removal of heavy metals (Buenos Aires, Argentina). *Chemosphere*, 57(8): 997-1005.
- Miretzky, P., Saralegui, A., & Cirelli, A. F. (2006). Simultaneous heavy metal removal mechanism by dead macrophytes. *Chemosphere*, 62(2): 247-254.
- Mishra, V. K., & Tripathi, B. D. (2009). Accumulation of chromium and zinc from aqueous solutions using water hyacinth (*Eichhornia crassipes*). *Journal of Hazardous Materials*, 164(2): 1059-1063.
- Mohan, D., & Pittman, C. U. (2006). Activated carbons and low cost adsorbents for remediation of tri-and hexavalent chromium from water. *Journal of Hazardous Materials*, 137(2): 762-811.

- Molisani, M. M., Salomão, M. S. M. B., Ovalle, A. R. C., Rezende, C. E., Lacerda, L. D., & Carvalho, C. E. V. (1999). Heavy metals in sediments of the Lower Paraíba do Sul River and Estuary, RJ, Brazil. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 63(5): 682-690.
- Monferrán, M. V., Pignata, M. L., & Wunderlin, D. A. (2012). Enhanced phytoextraction of chromium by the aquatic macrophyte *Potamogeton pusillus* in presence of copper. *Environmental Pollution*, 161: 15-22.
- Mothé, G.P.B. (2012). *Capacidade fotossintética e crescimento de dois genótipos de Ricinus communis L. em resposta a doses de material sólido particulado à base de ferro aplicadas ao solo*. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, 75p.
- Nagajyoti, P. C., Lee, K. D., & Sreekanth, T. V. M. (2010). Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 8(3): 199-216.
- Navakoudis, E., Lütz, C., Langebartels, C., Lütz-Meindl, U., & Kotzabasis, K. (2003). Ozone impact on the photosynthetic apparatus and the protective role of polyamines. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1621(2): 160-169.
- Nayyar, H., & Chander, S. (2004). Protective effects of polyamines against oxidative stress induced by water and cold stress in chickpea. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 190(5): 355-365.
- Olguín, E. J., & Sánchez-Galván, G. (2012). Heavy metal removal in phytofiltration and phycoremediation: the need to differentiate between bioadsorption and bioaccumulation. *New Biotechnology*, 30(1): 3-8.
- Ouyang, Y., Nkedi-Kizza, P., Wu, Q. T., Shinde, D., & Huang, C. H. (2006). Assessment of seasonal variations in surface water quality. *Water Research*, 40(20): 3800-3810.
- Paiva, L. B., de Oliveira, J. G., Azevedo, R. A., Ribeiro, D. R., da Silva, M. G., & Vitória, A. P. (2009). Ecophysiological responses of water hyacinth exposed to Cr 3⁺ and Cr 6⁺. *Environmental and Experimental Botany*, 65(2): 403-409.
- Pandey, V. C., Pandey, D. N., & Singh, N. (2015). Sustainable phytoremediation based on naturally colonizing and economically valuable plants. *Journal of Cleaner Production*, 86: 37-39.

- Panda, S. K., Choudhury, S., 2005. Chromium stress in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*. 17, 95-102.
- Papafilippaki, A. K., Kotti, M. E., & Stavroulakis, G. G. (2008). Seasonal variations in dissolved heavy metals in the Keritis River, Chania, Greece. *Global nest. Global NEST Journal*, 10(3): 320-325.
- Peixoto, P. H. P., Pimenta, D. S., & Antunes, F. (2005). Efeitos do flúor em folhas de plantas aquáticas de *Salvinia auriculata*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 40(8): 727-732.
- Peng, J. F., Song, Y. H., Yuan, P., Cui, X. Y., & Qiu, G. L. (2009). The remediation of heavy metals contaminated sediment. *Journal of Hazardous Materials*, 161(2): 633-640.
- Pilon-Smits, E. A., & Freeman, J. L. (2006). Environmental cleanup using plants: biotechnological advances and ecological considerations. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 4(4): 203-210.
- Pivetz, B. E. (2001). Phytoremediation of Contaminated Soil and Ground Water at Hazardous Waste Sites. Superfund Technology Support Center for Ground Water National Risk Management Research Laboratory Subsurface Protection and Remediation Division Robert S. Kerr Environmental Research Center Ada, Oklahoma. 1-37.
- Prasad, M. N. V., & Strzałka, K. (1999). Impact of heavy metals on photosynthesis. In *Heavy metal stress in plants* (pp. 117-138). Springer Berlin Heidelberg.
- Prochnow, E. A., Prochnow, T. R., & Prochnow, L. R. (2012). Circulação de cromo entre os compartimentos biótico e abiótico com indícios de bioindicação em uma turfeira não alterada no município de Guaíba, RS, Brasil. *Acta Scientiae*, 7(2): 41-50.
- Pures, L. F., & Ihlam, M. (2014). How to decontaminate soil using garden cress: A case study. *International Journal of Advanced and Applied Sciences*, 1(1): 1-6
- Rai, P. K. (2009). Heavy metal phytoremediation from aquatic ecosystems with special reference to macrophytes. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 39(9): 697-753.
- Rajkumar, M., Vara Prasad, M. N., Freitas, H., & Ae, N. (2009). Biotechnological applications of serpentine soil bacteria for

- phytoremediation of trace metals. *Critical Reviews in Biotechnology*, 29(2): 120-130.
- Ribeiro, R. V., Machado, E. C., Santos, M. G., & Oliveira, R. F. (2009). Photosynthesis and water relations of well-watered orange plants as affected by winter and summer conditions. *Photosynthetica*, 47(2): 215-222.
- Robson, A., Leandro, B., Simone, P., Flávio AO, C., & Elisandra Solange Oliveira, B. (2013). Copper phytoextraction and phytostabilization by *Brachiaria decumbens* Stapf. in vineyard soils and a copper mining waste. *Open Journal of Soil Science*, 2013.
- Rodriguez, E., Santos, C., Azevedo, R., Moutinho-Pereira, J., Correia, C., & Dias, M. C. (2012). Chromium (VI) induces toxicity at different photosynthetic levels in pea. *Plant Physiology and Biochemistry*, 53: 94-100.
- Ruppert, L., Lin, Z. Q., Dixon, R. P., & Johnson, K. A. (2013). Assessment of solid phase microfiber extraction fibers for the monitoring of volatile organoarsinicals emitted from a plant–soil system. *Journal of hazardous materials*, 262, 1230-1236.
- Ruttens, A., Mench, M., Colpaert, J. V., Boisson, J., Carleer, R., & Vangronsveld, J. (2006). Phytostabilization of a metal contaminated sandy soil. I: Influence of compost and/or inorganic metal immobilizing soil amendments on phytotoxicity and plant availability of metals. *Environmental Pollution*, 144(2): 524-532.
- Saha, B., & Orvig, C. (2010). Biosorbents for hexavalent chromium elimination from industrial and municipal effluents. *Coordination Chemistry Reviews*, 254(23): 2959-2972.
- Salt, D. E., Blaylock, M., Kumar, N. P., Dushenkov, V., Ensley, B. D., Chet, I., & Raskin, I. (1995). Phytoremediation: a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. *Nature biotechnology*, 13(5): 468-474.
- Santos, A. D., Oliveira, L. C. D., Botero, W. G., Mendonça, A. G. R., Santos, F. A. D., Rocha, J. C., & Oliveira, A. S. D. (2009). Distribution and bioavailability of chromium in contaminated soils by tannery residues. *Química Nova*, 32(7): 1693-1697.

- Sarma, H. (2011). Metal hyperaccumulation in plants: a review focusing on phytoremediation technology. *Journal of Environmental Science and Technology*, 4(2): 118-138.
- Sen, A.K., Mondal, N.G., Mondal, S. (1987). Studies of uptake and toxic effects of Cr (VI) on Pisita stratioites. *Water Sci.Technol.* 19, 119±127.
- Shanker,A.K., Cervantes, C., Tavera, H.L.,Avudainayagam, S. (2005). Chromiumtoxicity in plants. *Environ. Intern.* 31, 739–753.
- Shafi, N., Pandit, A. K., Kamili, A. N., & Mushtaq, B. (2015). Heavy Metal Accumulation by *Azolla pinnata* of Dal Lake Ecosystem, India. *Journal of Environment Protection and Sustainable Development* , 1(1): 8-12.
- Sharma, P., & Dubey, R. S. (2005). Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. *Plant Growth Regulation*, 46(3): 209-221.
- Sharma, S. S., & Dietz, K. J. (2006). The significance of amino acids and amino acid-derived molecules in plant responses and adaptation to heavy metal stress. *Journal of Experimental Botany*, 57(4): 711-726.
- Shi, B., Allen, H. E., Grassi, M. T., & Ma, H. (1998). Modeling copper partitioning in surface waters. *Water Research*, 32(12): 3756-3764.
- Shu, S., Guo, S. R., & Yuan, L. Y. (2012). A Review: Polyamines and Photosynthesis In: *Advances in Photosynthesis - Fundamental Aspects*, Mohammad Najafpour (Ed.), InTech. P. 439-464.
- Siedlecka, A. N. N. A., & Krupa, Z. B. I. G. N. I. E. W. (2004). Rubisco activity maintenance in environmental stress conditions-how many strategies. *Cellular and Molecular Biology Letters*, 9: 56-57.
- Silva, D. S., Marques, E. E., & Lólis, S. F. (2012). Macrófitas aquáticas: “vilãs ou mocinhas”? *Revista Interface (Porto Nacional)*: 04.
- Silva, L.B.C. (2008). Avaliação espaço-temporal de metais pesados no rio Paraíba do Sul e rio Imbé por meio de Plantas de *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms (AGUAPÉ) séston e sedimento. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais): Campos dos Goytacazes, Universidade Estadual do Norte Fluminense, 116p.
- Silva, M. V. R. D. (2012). Adsorção de cromo hexavalente por carvão ativado granulado comercial na presença de surfactante aniônico (LAS).

Dissertação (Mestrado em Engenharia Química): Belém – PA, Universidade Federal do Pará.

- Singh, K. P., Malik, A., Sinha, S., Singh, V. K., & Murthy, R. C. (2005). Estimation of source of heavy metal contamination in sediments of Gomti River (India) using principal component analysis. *Water, Air, and Soil Pollution*, 166(1-4): 321-341.
- Sinha, S., Singh, S., Mallick, S., & Sinam, G. (2009). Role of antioxidants in Cr tolerance of three crop plants: metal accumulation in seeds. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(4): 1111-1121.
- Somashekaraiah, B. V., Padmaja, K., & Prasad, A. R. K. (1992). Lead-induced lipid peroxidation and antioxidant defense components of developing chick embryos. *Free Radical Biology and Medicine*, 13(2): 107-114.
- Sracek, O., Křibek, B., Mihaljevič, M., Majer, V., Veselovský, F., Vencelides, Z., & Nyambe, I. (2012). Mining-related contamination of surface water and sediments of the Kafue River drainage system in the Copperbelt district, Zambia: an example of a high neutralization capacity system. *Journal of Geochemical Exploration*, 112: 174-188.
- Sreeram, K. J., Aravindhan, R., Rao, J. R., & NAIR, B. U. (2004). Mixed metal complexes of zirconium: A step towards reducing usage of chromium in tanning. *The Journal of the American Leather Chemists Association*, 99(3): 110-118.
- Sytar, O., Kumar, A., Latowski, D., Kuczynska, P., Strzałka, K., & Prasad, M. N. V. (2013). Heavy metal-induced oxidative damage, defense reactions, and detoxification mechanisms in plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35(4): 985-999.
- Schweikert, K., & Burritt, D. J. (2015). Polyamines in macroalgae: advances and future perspectives. *Journal of phycology*, 51(5), 838-849.
- Taiz, L. and Zeiger, E., 2009. *Fisiologia vegetal*. 5ª Ed. Artimed. 719p.
- Tangahu, B. V., Sheikh Abdullah, S. R., Basri, H., Idris, M., Anuar, N., & Mukhlisin, M. (2011). A review on heavy metals (As, Pb, and Hg) uptake by plants through phytoremediation. *International Journal of Chemical Engineering*, 2011.

- Thapa, G., Sadhukhan, A., Panda, S. K., & Sahoo, L. (2012). Molecular mechanistic model of plant heavy metal tolerance. *Biometals*, 25(3): 489-505.
- Tundisi, J. G., Tundisi, T. M. (2008). *Limnologia*. Oficina de textos: São Paulo, 631p.
- Urrutia, C., Rudolph, A., Lermada, M. P., & Ahumada, R. (2008). Assessment of EDTA in Chromium (III–VI) Toxicity on Marine Intertidal Crab (*Petrolisthes laevigatus*). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 80(6): 526-528.
- Van Nevel, L., Mertens, J., Oorts, K., & Verheyen, K. (2007). Phytoextraction of metals from soils: How far from practice?. *Environmental Pollution*, 150(1): 34-40
- Vardanyan, L. G., & Ingole, B. S. (2006). Studies on heavy metal accumulation in aquatic macrophytes from Sevan (Armenia) and Carambolim (India) lake systems. *Environment International*, 32(2): 208-218.
- Vardanyan, L., Schmider, K., Sayadyan, H., Heege, T., Heblinski, J., Agyemang, T.,... & Breuer, J. (2008). Heavy metal accumulation by certain aquatic macrophytes from lake Sevan (Armenia). In *Proceedings of Taal2007: The World Lake Conference*, 1028-1038.
- Varol, M., & Şen, B. (2012). Assessment of nutrient and heavy metal contamination in surface water and sediments of the upper Tigris River, Turkey. *Catena*, 92: 1-10.
- Vaziri, A., Panahpour, E., & MirzaeeBeni, M. H. (2013). Phytoremediation: A Method for Treatment of Petroleum Hydrocarbon Contaminated Soils. *International Journal of Farming and Allied Sciences*, 2: 909-913.
- Vernay, P., Gauthier-Moussard, C., & Hitmi, A. (2007). Interaction of bioaccumulation of heavy metal chromium with water relation, mineral nutrition and photosynthesis in developed leaves of *Lolium perenne* L. *Chemosphere*, 68(8): 1563-1575.
- Weis, J. S., & Weis, P. (2004). Metal uptake, transport and release by wetland plants: implications for phytoremediation and restoration. *Environment International*, 30(5): 685-700.
- Xue-Feng, H. U., Yan, D. U., Jian-Wei, F. E. N. G., Sheng-Qiong, F. A. N. G., Xiao-Jiang, G. A. O., & Shi-Yuan, X. U. (2013). Spatial and seasonal

- variations of heavy metals in wetland soils of the tidal flats in the Yangtze Estuary, China: Environmental implications. *Pedosphere*, 23(4): 511-522.
- Yaapar, M.N.B., I.N.B. Masri, N.B. Baharom, Y.J. Shyi, H.B.M. Ali, Phytoremediation, 2008. Biology. <http://www.biologyonline.org/articles/phytoremediation-a-lecture.html> (Acessado em 17 de fevereiro de 2015).
- Yang, J., & Ye, Z. (2009). Metal accumulation and tolerance in wetland plants. *Frontiers of Biology in China*, 4(3): 282-288.
- Yao, H., Qian, X., Gao, H., Wang, Y., & Xia, B. (2014). Seasonal and spatial variations of heavy metals in two typical Chinese rivers: concentrations, environmental risks, and possible sources. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 11(11): 11860-11878.
- Wang, K. S., Huang, L. C., Lee, H. S., Chen, P. Y., & Chang, S. H. (2008). Phytoextraction of cadmium by *Ipomoea aquatica* (water spinach) in hydroponic solution: effects of cadmium speciation. *Chemosphere*, 72(4), 666-672.
- Zayed, A. M., & Terry, N. (2003). Chromium in the environment: factors affecting biological remediation. *Plant and soil*, 249(1): 139-156.
- Zayed, A., Lytle, C. M., Qian, J. H., & Terry, N. (1998). Chromium accumulation, translocation and chemical speciation in vegetable crops. *Planta*, 206(2): 293-299.
- Zhou, Q., Zhang, J., Fu, J., Shi, J., & Jiang, G. (2008). Biomonitoring: an appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. *Analytica chimica acta*, 606(2): 135-150.

**CAPÍTULO II: FOTOSSÍNTESE E METAIS EM *Eichornia crassipes*:
VARIAÇÃO SAZONAL E ESPACIAL EM RIOS TROPICAIS**

RESUMO

Eichhornia crassipes é uma macrófita aquática hiperacumuladora de metais. O objetivo deste trabalho foi avaliar a variação sazonal e espacial dos parâmetros ecofisiológicos (trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a*) e a concentração de metais (Cr, Cu, Fe, Mg, Mn e Al) em raízes e parte aérea de *E. crassipes* e no material particulado em suspensão (MPS) em três rios tropicais (baixo Paraíba do Sul, Muriaé e Pomba) para responder se: 1) Existe variação sazonal e espacial na concentração de metais no MPS e em *E. crassipes*? 2) *E. crassipes* reflete as variações do MPS? 3) *E. crassipes* está sob estresse fotossintético em função das concentrações de metais? 4) Existe variação sazonal da fotossíntese em *E. crassipes*? Variações sazonais e espaciais na concentração de metais no MPS e em *E. crassipes* foram encontradas. O padrão de distribuição dos metais no MPS e nas raízes foi similar nos três rios (Al>Fe>Mg>Mn>Cr>Cu). O valor de F_v/F_m manteve-se próximo a 0.85 e qP acima de 0,89, sugerindo ausência de estresse fotossintético. A assimilação de carbono foi maior no período chuvoso em todos os rios (cerca de 30 % maior no baixo Paraíba do Sul e Muriaé, e cerca de 50% maior no rio Pomba). Os dados sugerem que a distribuição quantitativa de metais no MPS pode ser avaliada a partir de amostras de raízes de *E. crassipes* (e vice-versa), mas não da parte aérea. Embora a etapa fotoquímica da fotossíntese seja insensível a variação sazonal, a assimilação de carbono foi fortemente influenciada pela sazonalidade.

Palavras-chave: macrófita aquática flutuante livre, hiperacumuladora, trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a*.

1. INTRODUÇÃO

Os metais são poluentes importantes dos ecossistemas aquáticos e causam riscos ambientais persistentes que podem prejudicar seriamente a saúde humana e ecológica (Periñez et al., 2009; Rai, 2009; Naseri et al., 2015). As fontes de metais podem ser naturais ou de atividades antropogênicas: as naturais incluem o vulcanismo e intemperismo e as de atividades antropogênicas como os efluentes industriais, esgotos domésticos, práticas agrícolas e mineração (Yao et al., 2014). As concentrações de metais dos rios podem variar sazonalmente em diferentes compartimentos: água (Yao et al., 2014; Iori et al., 2015), material particulado em suspensão (MPS) (Camapanelli et al., 2010), e plantas aquáticas (Eid et al., 2012; Vitória et al., 2015). Na estação chuvosa, a diluição da concentração de metais pela entrada de água das chuvas é maior, mas por outro lado ocorre a ressuspensão do sedimento, aumento do aporte de materiais oriundos do solo e escoamento superficial e maior disponibilidade de metais disponíveis na coluna d'água (Salomão et al., 2001; Carvalho et al., 2002; Eggleton & Thomas, 2004; Beltrame et al., 2009).

As plantas aquáticas têm a capacidade de absorver e bioconcentrar metais a partir dos sedimentos ou da coluna d'água através de diferentes mecanismos como a imobilização dos metais no vacúolo das células e retenção preferencial de metais nas raízes (Shanker et al., 2004; Miretzky et al., 2006; Mishra et al., 2008; Diwan et al., 2010; Mallec et al., 2011). Alguns metais como Zn, Cu, Fe, Mg e Mn são considerados nutrientes essenciais às plantas, pois são necessários para o desenvolvimento adequado desses organismos (Taiz e Zaiger, 2009; Sinha et al., 2009). Entretanto, a presença desses metais em excesso pode causar toxicidade (Tüzen, 2003; Clemens, 2006). Elevados níveis de metais, que normalmente são tóxicos para a maioria dos organismos, podem ser tolerados por algumas macrófitas aquáticas (Lesage et al., 2007; Dhir et al., 2009; Mishra e Tripathi, 2009; Dhir e Srivastava, 2011). No entanto, apesar de possuir mecanismos de tolerância a metais (Marchand et al., 2010), alguns sintomas de toxicidade podem ocorrer nas macrófitas aquáticas (Yang e Ye, 2009). Dentre os sintomas de toxicidade estão incluídas alterações ultraestruturais, inibição da fotossíntese, necrose foliar, redução do crescimento radicular, alteração na absorção de nutrientes,

entre outros (Burzyński e Żurek, 2007; Paiva et al., 2009; Rajkumar et al., 2009).

Eichhornia crassipes, Pontederiaceae, é uma macrófita aquática flutuante com distribuição pantropical (Heywood, 1993) conhecida por tolerar e crescer em corpos d' água poluídos e lagos eutrofizados e muito utilizada em fitorremediação (Mishra e Tripathi, 2009; Malar et al., 2015). Enquanto a presença de metais não essenciais prejudica a fotossíntese na maioria das espécies, *E. crassipes* apresenta aumento da assimilação de carbono na presença de Cr^{3+} (Paiva et al., 2009), o que ratifica seu metabolismo diferenciado e potencial como fitorremediadora.

No Brasil, o rio Paraíba do Sul (RPS) é o maior e mais importante rio da região sudeste, a região mais industrializada do país, e recebe cerca de 207 toneladas de esgoto doméstico e industrial diariamente (Fukurozaki & Seo, 2014). Alguns dos afluentes do RPS, como os rios Pomba e Muriaé também possuem histórico de contaminação ambiental, mas de diferentes fontes antropogênicas, como extração e beneficiamento de rochas ornamentais (Huguenin, 2006; Almeida & Souza, 2008; Do Nascimento & Naime, 2009).

Frente ao exposto, o presente trabalho determinou a concentração de metais (no material particulado em suspensão e em *E. crassipes*) e avaliou a atividade fotossintética de *E. crassipes* nos rios Paraíba do Sul, Pomba e Muriaé, tendo como objetivo responder as seguintes questões: 1) Existe variação sazonal e espacial na concentração de metais do MPS e de *E. crassipes*? Caso isso ocorra, 2) *E. crassipes* reflete as variações do MPS? 3) indivíduos de *E. crassipes* estão sob estresse fotossintético em função das concentrações de metais? 4) existe variação sazonal da fotossíntese em *E. crassipes*?

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material vegetal, período de amostragem, e locais de estudo

Eichhornia crassipes (Mart.) Solms foi coletada em agosto de 2012 (estação seca) e fevereiro de 2013 (estação chuvosa) (Figuras 1, 2 e 3 do Anexo do Capítulo II) . Os indivíduos de *E. crassipes* foram coletados em três

pontos em cada rio, distantes cerca de 500 m. Verificou-se nos dias de coleta que a morfologia das plantas dos três rios era um pouco diferentes. As plantas do rio Paraíba do Sul pareciam mais adaptadas ao ambiente poluído, as plantas do rio Muriaé eram mais viçosas e as plantas do rio Pomba tinham folhas mais danificadas (Figuras 1, 2 e 3 do Anexo do Capítulo II). O rio Paraíba do Sul tem extensão aproximada de 1,180 km e é utilizado para fins domésticos e industriais, como fonte de abastecimento e receptor de efluentes (Marengo & Alves, 2005), percorrendo três dos estados mais industrializados do Brasil (Marengo & Alves, 2005; Ovalle et al., 2013). Os rios e municípios de coleta estão situados no estado do Rio de Janeiro, sudeste do Brasil: 1) rio Paraíba do Sul (baixo RPS), município de Campos dos Goytacazes (S: 21°76'03°, W: 41°28'15°); 2) rio Muriaé, município de Cardoso Moreira, (S: 21°49'00°, W: 41°63'26°); e 3) rio Pomba, município de Santo Antônio de Pádua (S: 21°53'63°, W: 42°15'55°) (Figura 1, Tabela 1). O rio corre na direção leste-oeste, e flui para o Oceano Atlântico (Molisani et al., 2005). Seus principais afluentes são: o Rio Dois Rios, o Rio Muriaé e o Rio Pomba. O rio Muriaé é um importante afluente da margem esquerda do RPS com aproximadamente 300 Km de extensão (Vargas & Damiance, 2003; Prado et al., 2005; Araújo et al., 2010). O rio Pomba percorre 290 km no sentido sudeste até a sua confluência com o RPS (Guedes et al., 2012). No município de Santo Antônio de Pádua-RJ, onde foram feitas as coletas de amostras do rio Pomba, 150 km a montante do ponto de coleta do RPS, a principal atividade econômica é a extração e beneficiamento de rochas ornamentais (Moreira et al., 2005; Vieira et al., 2006).

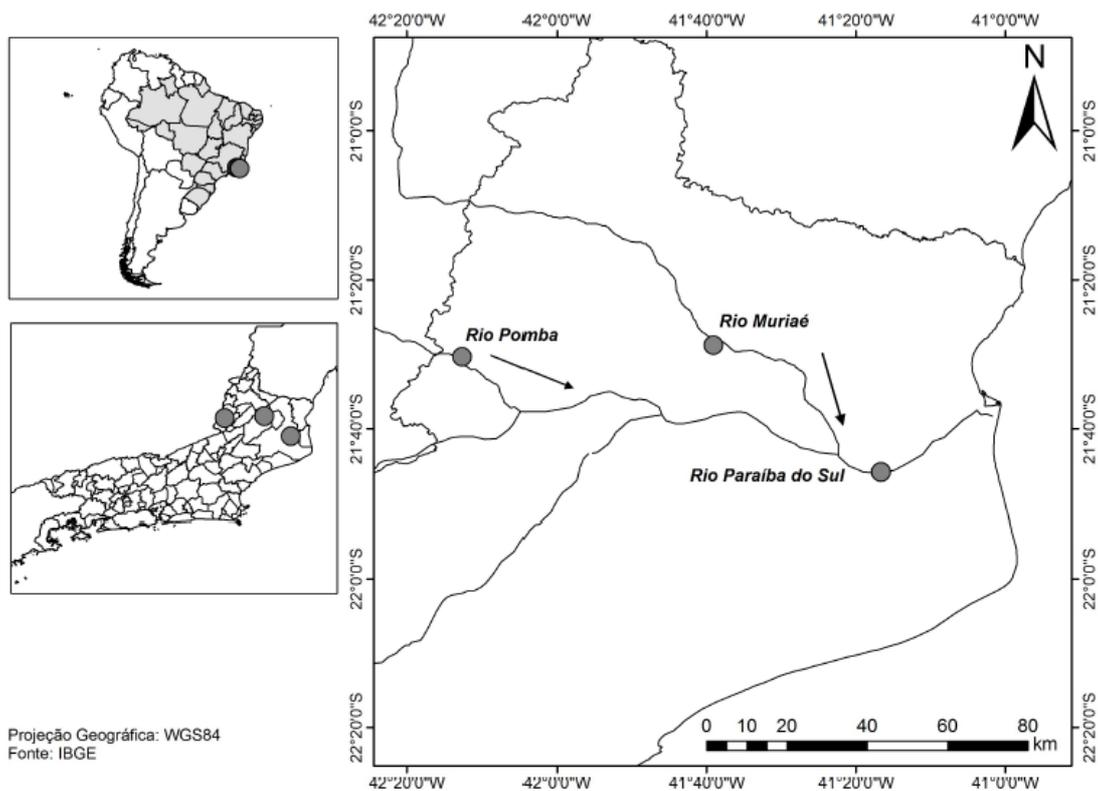


Figura 1. Localização dos rios Paraíba do Sul (RPS), Muriaé e Pomba.

Os valores dos parâmetros físico-químicos da água dos rios em estudo podem ser observados na Tabela 1.

Tabela 1. Média dos parâmetros físico-químicos da água coletada nos rios Paraíba do Sul, Muriaé, e Pomba em agosto de 2012 (estação seca) e fevereiro de 2013 (estação chuvosa).

Parâmetros	Rios					
	Paraíba do Sul		Muriaé		Pomba	
	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso
Temperatura da água (°C)	23,9	29,1	23,3	29,5	25,7	28
Condutividade ($\mu\text{S},\text{cm}^{-1}$)	67,2	70,5	62	63,1	62	60,8
pH	6,2	6,7	6,7	6,8	6,4	6,6

O complexo do RPS, que engloba o rio Pomba e Muriaé, é formado principalmente por rochas gnaisses bandados e migmatitos (RadamBrasil, 1983) (Tabela 2).

Tabela 2. Concentrações de metais nas litologias dominantes na bacia de drenagem do complexo rio Paraíba do Sul (RPS) (Fonte: RadamBrasil, 1983).

	Microclina gnaisse mg/g ⁻¹	Migmatitos mg/g ⁻¹
Al ₂ O ₃	140	167
Fe ₂ O ₃	20	5
FeO	35	45
MnO	0,6	0,6
MgO	17	13
Cr	26	12
Cu	20	12

2.2. Determinação da concentração de metais em *E. crassipes*

A concentração de metais (Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Al) foi determinada em 72 indivíduos de *E. crassipes*, 36 coletados na estação seca e 36 na estação chuvosa. Em cada ponto de coleta (Figura. 1) foram coletados 4 indivíduos de *E. crassipes* totalizando 12 amostras em cada rio. Os indivíduos foram levados para o laboratório e lavados com água deionizada para remoção do material aderido. Posteriormente, os indivíduos foram divididos em raízes e parte aérea e colocados em estufa de circulação de ar a 60 °C por 4 dias. Após a secagem, o material vegetal (amostra) foi macerado e em seguida foi realizada a digestão ácida para quantificação de metais. Três réplicas de cada uma das amostras foram digeridas e analisadas. A digestão ácida para extração de metais (Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Al) foi realizada por 15 horas em bombas de teflon a partir de 0,5 g de amostra seca acrescida de 10 mL de ácido nítrico (65% HNO₃) e 4 mL de ácido fluorídrico (48% HF). Posteriormente, as bombas foram aquecidas em bloco digestor a 130°C por cerca de 6 horas. Após o resfriamento (30 min), foram adicionados 10 mL de solução a 4% de ácido bórico (H₃BO₃) para neutralização do HF e as bombas foram levadas novamente ao bloco digestor por 1 hora a 80 °C. O extrato final foi filtrado em papel Whatman 40 e o volume final foi completado para 20 mL em balão volumétrico usando ácido nítrico (HNO₃ 0,5 N) (Baseado em Filgueiras et al., 2000). As determinações dos metais Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Al foram realizadas em um ICP-OES (Varian-720ES) (Adaptado, Hoenig et al., 1998). Os valores foram expressos em mg g⁻¹ ou µg g⁻¹ de matéria seca.

2.3. Determinação da concentração de metais no material particulado em suspensão

Vinte litros de água de cada rio foram coletados para a determinação da concentração de metais no material particulado em suspensão. O volume total de água de cada rio foi filtrado em filtros de nitrato celulose 0,45 μm (Sartorius stedim biotech), 18 filtros foram obtidos na estação seca (6 para cada rio) e 18 na estação chuvosa. Após a filtragem, os filtros foram secos em estufa com circulação e renovação de ar (Marconi – MA035- Brasil) por 1 dia a 60°C e pesados em balança analítica (Shimadzu - AY220 - Japão). Para a digestão ácida destes filtros, os mesmos foram recortados em pequenos fragmentos e individualmente acondicionados em tubos de teflon (X-press) onde foram adicionados 4,5 mL de HNO_3 (65%), acrescido de 2 mL de HF (48%) e 2 mL de HCl (37%). Os extratos foram mantidos em repouso por 15 horas em temperatura ambiente e em seguida, levados ao Microondas, (CEM, modelo Mars X-press, USA) por 40 minutos (15min - Ramp e 25min - Hold) a 175 °C e potência de 1600w (adaptado de EPA 3052, 1995). Após o resfriamento (30 min), foram adicionados 6 mL de H_3BO_3 (4%) e os tubos foram levados novamente ao microondas por 25 minutos (15min- Ramp e 10 min – Hold) a 170°C. Após o resfriamento (30 min), o extrato final foi filtrado em papel Whatman 40 e acrescido de ácido nítrico (HNO_3 0,5 N) em balão volumétrico até volume final de 20 mL. A determinação dos metais foi realizada em ICP-OES (Varian-720ES- Alemanha). Os resultados foram expressos em $\mu\text{g g}^{-1}$ e mg g^{-1} .

2.4. Controle da qualidade

Toda a vidraria foi previamente limpa com Extran (5%) durante 24 horas, seguida por mais 24 horas em HCl (5%) e novamente mais 24 horas em HNO_3 (5%). Após este período, três lavagens com água deionizada foram conduzidas. Reagentes de grau analítico foram utilizados em todos os procedimentos (Merck). Brancos foram determinados para todos os experimentos (em triplicata, para cada conjunto de 40 amostras). O coeficiente de variação máximo obtido entre as triplicatas foi sempre inferior a 10%. Para certificação da completa digestão das amostras vegetais, a recuperação de

metais em material padrão de referência, folha da maçã 1515 fornecido pelo Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (EUA) foi realizada (Tabela 3). Para certificação do processo de digestão do MPS, a exatidão e precisão testada para metais no Material de Referência de sedimentos estuarinos 1646a foi aferida (Tabela 3). Os limites de detecção ICP-OES (Varian-720ES-Alemanha) para amostras vegetais e de MPS são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Médias (\pm desvios padrões) da recuperação de metais (%) em folhas de maçã material de referência padrão de 1515 e de recuperação de metal (%) em referência sedimentos estuarinos material padrão 1646a, ambos fornecidos pelo Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (EUA). limites ICP-OES (Varian-720 ES, Alemanha) de detecção ($\mu\text{g g}^{-1}$) para material vegetal e sedimentos.

	Cr	Cu	Fe	Mg	Mn	Al
Recuperação padrão vegetal	97 \pm 8	99 \pm 5	94 \pm 6	96 \pm 4	98 \pm 4	90 \pm 6
Recuperação padrão sedimentos	96 \pm 5	95 \pm 4	90 \pm 6	93 \pm 5	90 \pm 5	96 \pm 8
ICP-OES limite de detecção plantas	0,1	0,2	0,2	0,2	0,1	0,3
ICP-OES limite de detecção sedimento	0,5	0,6	0,8	0,8	0,3	1

2.5. Medições ecofisiológicas

2.5.1. Trocas gasosas

Para as avaliações de trocas gasosas, o total de 10 indivíduos de *E. crassipes* foram coletados em 3 pontos de cada rio, em cada estação (seca e chuvosa) ($n = 10$). Os indivíduos foram coletados de barco e trazidos para a margem, onde permaneceram em recipientes de polietileno com água do local de coleta por pelo menos cerca de 20 minutos antes das medições. Todas as medidas ecofisiológicas foram feitas a partir destas coletas. As medidas foram realizadas entre 9:00 e 10:30 horas utilizando-se um analisador de gás carbônico infravermelho (IRGA) portátil, de circuito fechado, modelo Ciras 2 (PP Systems, UK), com câmara foliar calibrada para 380 ppm de CO_2 , sob intensidade luminosa artificial de 2000 $\mu\text{mol de f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ e umidade de 80% (Paiva et al., 2009). Os par\u00e2metros aferidos foram: assimila\u00e7\u00e3o de carbono (A), transpira\u00e7\u00e3o (E), condut\u00e2ncia estom\u00e1tica (g_s) e carbono interno (C_i). Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

2.5.2. Fluorescência da clorofila *a*

Para as avaliações de fluorescência da clorofila *a*, o total de 15 indivíduos de *E. crassipes* foram coletados em 3 pontos de cada rio ($n = 15$) em cada estação (seca e chuvosa). As medições foram realizadas entre 12:00-14:00 horas usando um fluorômetro portátil de luz modulada (FMS2, Hansatech, UK). As folhas foram previamente adaptadas ao escuro durante 30 min utilizando cliques de folha, e, em seguida, exposta a um fraco feixe de luz modulado (aproximadamente de $6 \text{ mmol de m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ a 660 nm), seguido pela exposição (0,8 s) de alta intensidade ($10000 \text{ } \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) de luz branca actínica, de acordo com Genty et al. (1989). As variáveis determinadas foram: (1) rendimento quântico máxima de FSII (F_v / F_m); (2) rendimento quântico variável do PSII F_v / F_0 ; (3) extinção fotoquímica (qP); e (4) extinção não fotoquímica (PNQ).

2.6. Análises estatísticas

As concentrações de metais foram submetidas a análise de variância multivariada (MANOVA) através do software STATISTICA versão 7.0 ($P \leq 0.05$). As trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a* foram submetidas ao teste de Kruskal–Wallis através do software STATISTICA versão 7.0 ($P \leq 0.05$). Análise multivariada dos componentes principais (PCA) foi realizada para verificar a ordenação dos conjuntos dos metais (Al, Fe, Mg, Mn, Cr, Cu) nas raízes e parte aérea de *E. crassipes* dos rios em questão. O software utilizado para realização da PCA foi PRIMER 6 & PERMANOVA.

3. RESULTADOS

3.1. Concentração de metais

Maiores concentrações de metais foram verificadas nas raízes de *E. crassipes* quando em comparação com a parte aérea, independente do rio e da estação, com exceção do Mg (Tabela 4). As concentrações de metais nas raízes de *E. crassipes* dos três rios seguiram o mesmo padrão: $\text{Al} > \text{Fe} > \text{Mg} > \text{Mn} > \text{Cr} > \text{Cu}$, com exceção do $\text{Cu} > \text{Cr}$ na estação chuvosa no rio Muriaé. Na parte aérea, a distribuição quantitativa dos metais teve alteração em relação às raízes: $\text{Mg} > \text{Al} > \text{Fe} > \text{Mn} > \text{Cu} > \text{Cr}$. Todos os metais apresentaram variações sazonais nas raízes e parte aérea de *E. crassipes* em todos os rios.

Entretanto, maior frequência de variação foi verificada nas raízes. Cobre (rios RPS e Muriaé) e Cr (rio RPS) foram quantificados em maiores concentrações nas raízes de *E. crassipes* na estação chuvosa, enquanto Al e Mg (RPS e rio Pomba) e Fe (todos os rios) foram detectados em maiores concentrações na estação seca. A distribuição quantitativa para os metais no MPS para os três rios foi a mesma encontrada para as raízes: Al>Fe>Mg>Mn>Cr>Cu, com exceção do rio Pomba na estação seca, onde o Mn (6,71 mg g⁻¹) foi maior que o Mg (2,56 mg g⁻¹) e o Cu (135,28 µg g⁻¹) foi maior que o Cr (32,02 µg g⁻¹) (Tabela 4). No MPS do rio Pomba na estação seca foram encontradas as maiores concentrações de Cu (135,8 µg g⁻¹), Fe (154,46 mg g⁻¹) e Mn (6,71 mg g⁻¹) em comparação com os demais rios. O único elemento a não apresentar variação sazonal foi o Al.

Tabela 4. Média (\pm desvio-padrão) da concentração de Al, Fe, Mg, Mn, Cr, Cu em raízes e folhas de *E. Crassipes* e material particulado em suspensão (MPS) dos rios Paraíba do Sul, Muriaé e Pomba, Brasil, em agosto de 2012 (estação seca) e fevereiro de 2013 (estação chuvosa). Letras maiúsculas comparam entre os rios na mesma estação. Letras minúsculas comparam entre as estações no mesmo rio. * indica diferenças significativas nas concentrações de metais entre raízes e parte aérea ($P \leq 0.05$), plantas N=12; MPS N=3).

		Rios																	
		Paraíba do Sul				Muriaé				Pomba									
		Seco		Chuvoso		Seco		Chuvoso		Seco		Chuvoso							
Raiz																			
Al	(mg g ⁻¹)	36,84	\pm 7,56	Aa*	25,81	\pm 6,68	Bb*	38,42	\pm 6,67	Aa*	33,86	\pm 7,19	Aa*	42,99	\pm 5,58	Aa*	24,25	\pm 4,73	Bb*
Fe	(mg g ⁻¹)	27,16	\pm 7,24	Ba*	15,92	\pm 4,46	Ab*	26,36	\pm 6,35	Ba*	13,66	\pm 3,09	Ab*	36,3	\pm 7,98	Aa*	21,42	\pm 5,74	Ab*
Mg	(mg g ⁻¹)	7,37	\pm 1,65	Aa	3,02	\pm 0,88	Bb	5,297	\pm 0,64	Ba	4,87	\pm 1,13	Aa	8,46	\pm 0,83	Aa	3,71	\pm 1,06	Bb
Mn	(mg g ⁻¹)	2,02	\pm 0,57	Cb*	2,95	\pm 0,80	Aa*	5,04	\pm 1,22	Aa*	2,38	\pm 0,69	Ab*	3,28	\pm 0,72	Ba*	1,85	\pm 0,47	Bb*
Cr	(μ g g ⁻¹)	30,33	\pm 8,34	Ab*	42,83	\pm 11,62	Aa*	25,91	\pm 4,42	Aa*	19,82	\pm 5,15	Ca*	33,38	\pm 7,11	Aa*	27,11	\pm 5,67	Ba*
Cu	(μ g g ⁻¹)	17,82	\pm 4,51	Bb*	31,08	\pm 6,21	Ba*	17,08	\pm 2,25	Bb*	61,40	\pm 8,26	Aa*	23,33	\pm 3,38	Aa*	23,49	\pm 2,08	Ca*
Parte aérea																			
Al	(mg g ⁻¹)	2,7	\pm 0,71	Aa	1,92	\pm 0,53	Aa	5,27	\pm 1,54	Aa	2,29	\pm 0,64	Aa	4,99	\pm 1,29	Aa	2,54	\pm 0,71	Aa
Fe	(mg g ⁻¹)	2,72	\pm 0,7	Aa	0,61	\pm 0,16	Aa	3,34	\pm 0,77	Aa	0,58	\pm 0,16	Aa	3,14	\pm 0,9	Aa	1,42	\pm 0,4	Aa
Mg	(mg g ⁻¹)	7,44	\pm 1,34	Ba	5,22	\pm 0,43	Bb*	8,63	\pm 0,66	Ba*	7,88	\pm 1,66	Aa*	9,15	\pm 0,56	Aa	6,47	\pm 1,48	Bb*
Mn	(mg g ⁻¹)	0,53	\pm 0,12	Ab	0,91	\pm 0,24	Aa	1,11	\pm 0,23	Aa	0,52	\pm 0,14	Aa	1,16	\pm 0,24	Aa	0,49	\pm 0,14	Aa
Cr	(μ g g ⁻¹)	4,96	\pm 1,34	Aa	2,09	\pm 0,52	Ba	4,29	\pm 1,17	Ba	10,05	\pm 2,48	Aa	3,09	\pm 0,76	Ca	5,29	\pm 1,49	Ba
Cu	(μ g g ⁻¹)	5,94	\pm 1,28	Aa	9,26	\pm 1,02	Ba	7,38	\pm 1,36	Ab	18,88	\pm 3,80	Aa	7,34	\pm 1,99	Aa	11,23	\pm 1,70	Ba
MPS																			
Al	(mg g ⁻¹)	131	\pm 26	Aa	121	\pm 26,32	Aa	154	\pm 45	Aa	152	\pm 13	Aa	129	\pm 18	Aa	164	\pm 8	Aa
Fe	(mg g ⁻¹)	73	\pm 15	Ba	81	\pm 22,47	Ca	84	\pm 40	Bb	115	\pm 1	Aa	154	\pm 16	Aa	111	\pm 3	Bb
Mg	(mg g ⁻¹)	3,00	\pm 0,62	Aa	3,33	\pm 0,74	Aa	5	\pm 2	Aa	3,90	\pm 0,34	Aa	2,56	\pm 0,35	Aa	1,47	\pm 0,12	Ab
Mn	(mg g ⁻¹)	2,02	\pm 0,57	Ba	1,43	\pm 0,71	Aa	2,72	\pm 1,98	Ba	1,78	\pm 0,03	Aa	6,71	\pm 0,21	Aa	1,15	\pm 0,06	Ab
Cr	(μ g g ⁻¹)	41,83	\pm 12,72	Bb	68,31	\pm 9,66	Ba	64,00	\pm 10,92	Aa	71,71	\pm 1,38	Ba	32,02	\pm 8,24	Bb	105,48	\pm 3,07	Aa
Cu	(μ g g ⁻¹)	39,93	\pm 7,37	Ba	24,91	\pm 13,03	Aa	45,76	\pm 32,66	Ba	28,77	\pm 0,62	Aa	135,28	\pm 2,10	Aa	34,22	\pm 1,50	Ab

A PCA para a concentração de metais em *E. crassipes* mostra a formação de grupos em função da distribuição espacial principalmente na estação chuvosa (Figura 2), exceções feitas para as amostras de raízes no rio Pomba. A PCA para a concentração de metais nas raízes de *E. crassipes* explicou 66,6% dos resultados (Figura 2A). Na estação chuvosa (símbolos cinza) houve separação espacial das amostras do RPS e Muriaé, o mesmo não acontecendo no período seco. As amostras do rio Pomba não seguiram este padrão, não tendo sido possível separar as amostras em função da sazonalidade. Os metais que mais contribuíram para a variância da PC1 foram o Al e o Fe. As amostras de parte aérea (Figura 2B) ficaram mais claramente separadas na análise das componentes principais quanto aos rios de origem do que as das raízes na estação chuvosa, podendo ser verificado o grupo com as amostras do rio Pomba na estação chuvosa. A PCA para a parte aérea também evidenciou separação espacial e sazonal das amostras. A PC1 separou as amostras quanto a sazonalidade, com valores positivos para as amostras da estação seca e valores predominantemente negativos para estação chuvosa. Os metais que mais contribuíram para a variância da PC1 foram o Mg e Cu. Somente na PC2 para a estação seca houve uma separação espacial entre as amostras do RPS em comparação com as amostras dos demais rios.

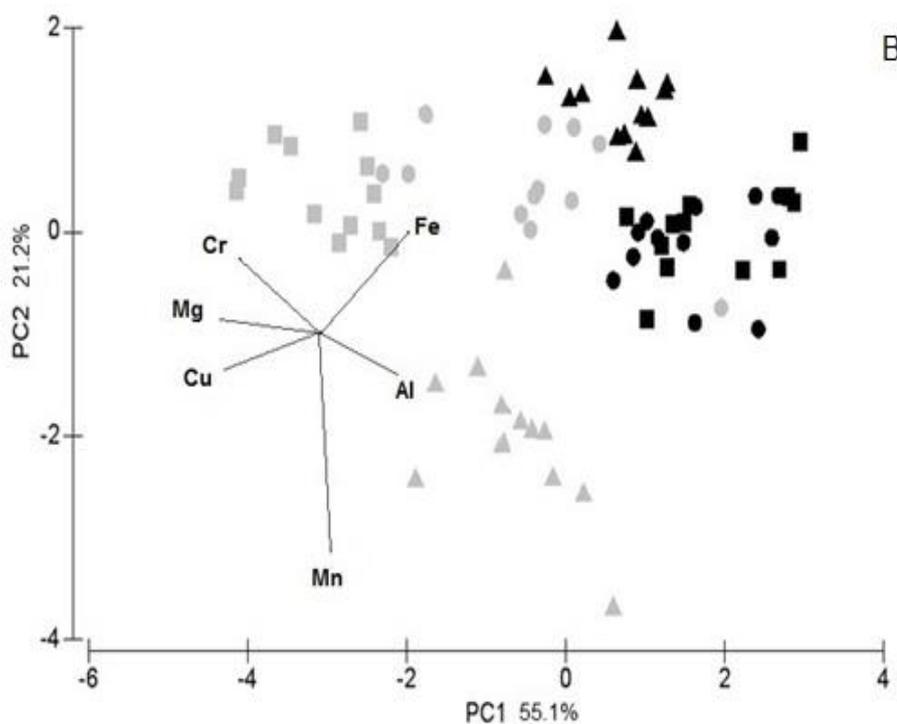
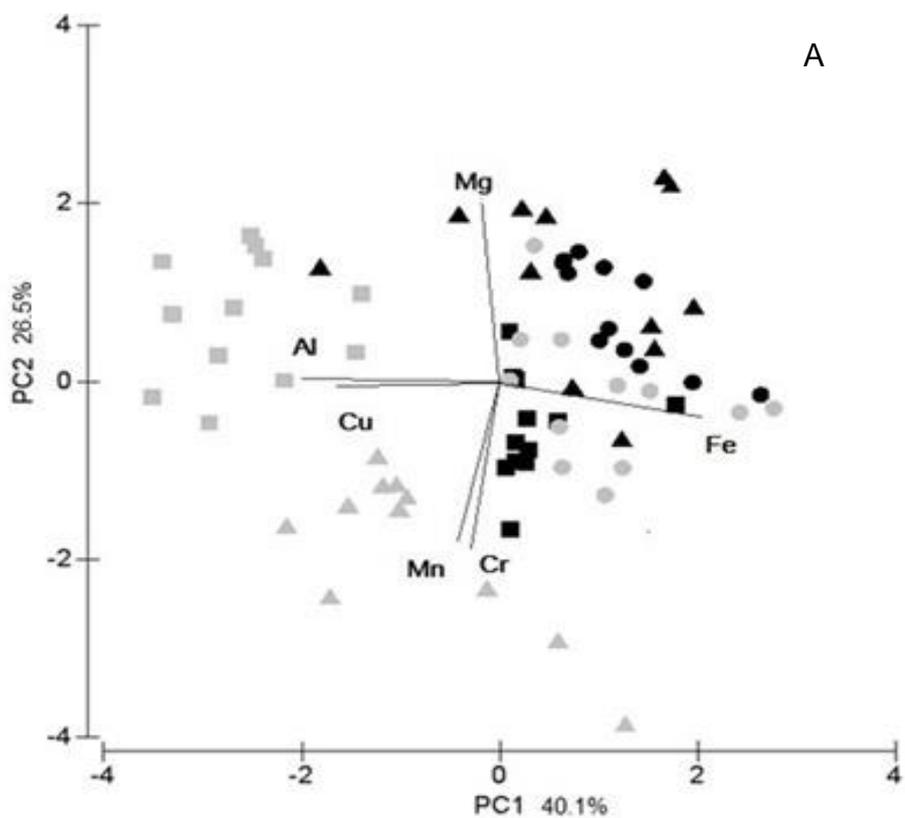


Figura 2. Espaço de ordenação dos componentes principais (PCA) em raízes (A) e folhas (B) de *Eichhornia crassipes*. Concentrações de metais (Fe, Cr, Cu, Mg, Mn e Al) no rio Paraíba do Sul = triângulo, Muriaé = quadrado e Pomba = círculo. Estação seca = preto. Estação chuvosa = cinza

3.2. Trocas gasosas

Os valores de A , g_s e E de *E. crassipes* foram maiores na estação chuvosa do que na seca nos três rios (Figura 3). A de *E. crassipes* do RPS e rio Muriaé foi cerca de 30% maior na estação chuvosa em comparação com a estação seca, enquanto que nos indivíduos do rio Pomba, A aumentou cerca de 50% (Figura 3A). g_s em *E. crassipes* dos três rios foi cerca de 40% maior na estação chuvosa em comparação com a estação seca (Figura 3B). C_i foi o parâmetro com menor variação sazonal, tendo sido cerca de 10% maior na estação seca nos rios Muriaé e Pomba e não apresentando variação sazonal nas plantas do RPS (Figura 3 D).

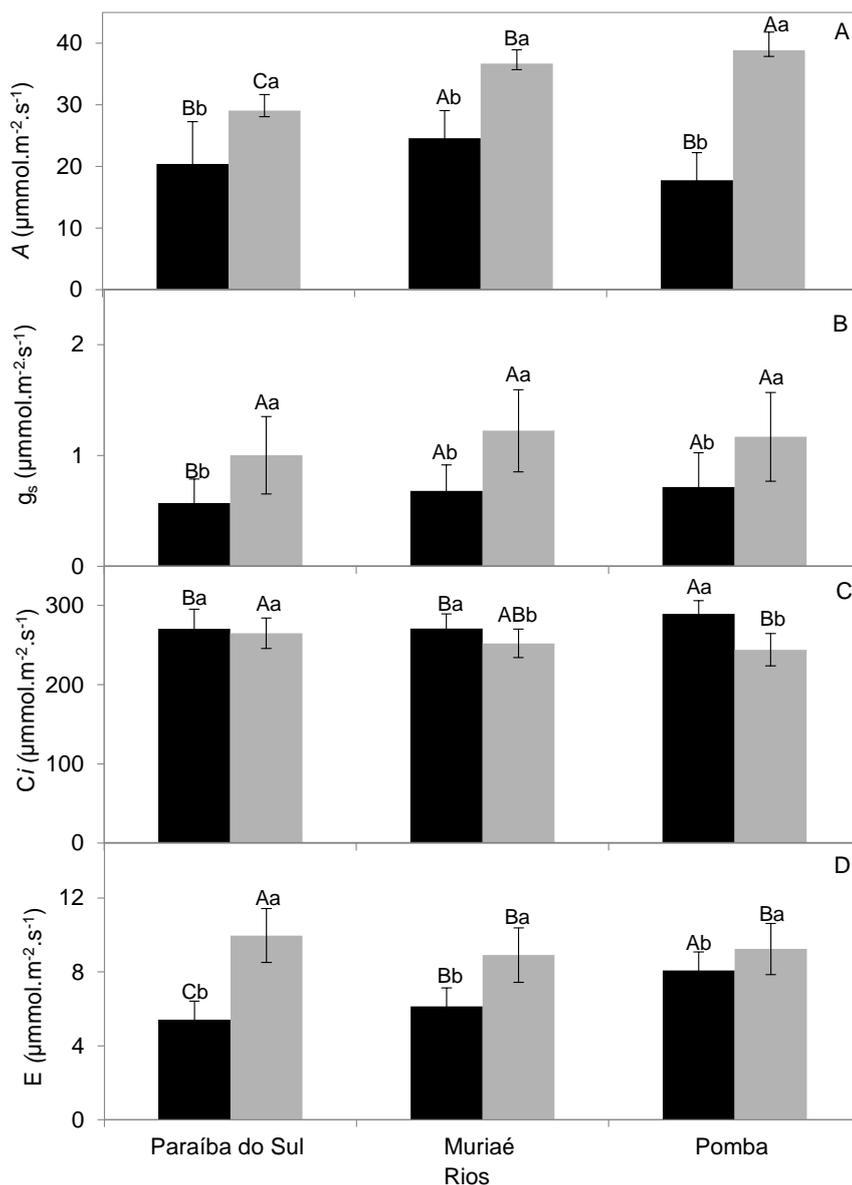


Figura 3. Média e desvio padrão dos parâmetros de trocas gasosas. A = Assimilação de CO_2 (A); g_s = condutância estomática (B), C_i = carbono interno (C) e E = transpiração (D) em *Eichhornia crassipes* dos rios Paraíba do Sul (RPS), Muriaé (MR) e Pomba (PR) em agosto de 2012 (período seco = preto) e fevereiro de 2013 (período chuvoso = cinza). Letras maiúsculas = comparação entre os rios no mesmo período. Letras minúsculas = comparação entre os períodos no mesmo rio ($p \leq 0.05$). N=10.

3.3. Fluorescência da clorofila a

Diferente dos valores de trocas gasosas, os parâmetros de fluorescência da clorofila a em *E. crassipes* apresentaram menor variação sazonal ou espacial: F_v/F_m variou entre 0,82 e 0,85; F_v/F_0 variou entre 4,76 e 5,77; qP variou entre 0,89 e 0,98; e qNP e NPQ entre 0,05 e 0,13 (Tabela 5).

Tabela 5. Média (\pm desvio-padrão) dos parâmetros de fluorescência da clorofila *a* de *Eichhornia crassipes* oriundas dos rios Paraíba do Sul, Muriaé e Pomba em agosto de 2012 (estação seca) e fevereiro de 2013 (estação chuvosa). F_v/F_m = rendimento quântico máximo do fotossistema II; F_v/F_0 = taxa variável da fluorescência mínima; qP = *quenching* fotoquímico; qNP = *quenching* não fotoquímico; NPQ = *quenching* não fotoquímico. Letras maiúsculas comparam entre os rios na mesma estação. Letras minúsculas comparam entre as estações no mesmo rio ($P \leq 0.05$). N=15

	Rios											
	Paraíba do Sul				Muriaé				Pomba			
	Seco		Chuvoso		Seco		Chuvoso		Seco		Chuvoso	
F_v/F_m	0,8 \pm 0,02	Ab	0,9 \pm 0	Aba	0,84 \pm 0,02	Ab	0,9 \pm 0,01	Aa	0,82 \pm 0	Aa	0,8 \pm 0,02	Ba
F_v/F_0	4,8 \pm 0,56	Ab	5,5 \pm 0,6	Aba	5,14 \pm 0,59	Ab	5,8 \pm 0,56	Aa	4,81 \pm 0,9	Aa	5,6 \pm 0,79	Ba
qP	1 \pm 0,03	Ba	0,9 \pm 0	Ab	0,98 \pm 0,01	Aa	1 \pm 0,02	Ab	0,89 \pm 0,1	Bb	0,9 \pm 0,03	Ba
qNP	0,1 \pm 0,09	Aa	0,1 \pm 0	Ba	0,05 \pm 0,03	Bb	0,1 \pm 0,02	Ba	0,06 \pm 0	Bb	0,1 \pm 0,04	Aa
NPQ	0,1 \pm 0,11	Ab	0,1 \pm 0	Ba	0,05 \pm 0,02	Ab	0,1 \pm 0,02	Ba	0,11 \pm 0,1	Ba	0,10 \pm 0,04	Aa

4. DISCUSSÃO

Variações sazonais e espaciais na concentração de metais do MPS e nos indivíduos de *E. crassipes* foram encontradas, respondendo positivamente nossa primeira questão. O verão do ano de 2013 (Anexo do Capítulo II) (estação chuvosa do presente estudo) apresentou menor pluviosidade do que a média dos verões dos anos anteriores (INMET, 2015). Em 2012 teve início uma escassez hídrica na região sudeste do Brasil que vem se agravando até os dias atuais. Essa anomalia pode ter influenciado no padrão de sazonalidade mais discreto para metais. Dentre os três rios avaliados, o RPS é o mais estudado e os dados de sua vazão mostram que a amplitude de variações entre estação seca e chuvosa no ano de 2012/2013 foi menor que nos anos anteriores (Fev 12: 2,202 m³s⁻¹, Fev 13: 1,875 m³s⁻¹, Ago 12: 565 m³s⁻¹, e Ago 13: 417 m³s⁻¹, dados do Laboratório de Ciências Ambientais, UENF; Ovalle et al., 2013). As variações espaciais nas concentrações de metais nos rios estudados e na biota associada têm como principais causas as intervenções antropogênicas, uma vez que o complexo do RPS, que engloba os rios Muriaé e Pomba, tem a composição litológica da bacia de drenagem semelhante (RadamBrasil, 1983) (Tabela 2). As elevadas concentrações de Fe e Al nos três rios são devidas a compostos de Al₂O₃, Fe₂O₃ e FeO, presentes em maiores quantidades nas litologias dominantes (gnaisse e migmatitos) na bacia de drenagem do RPS. Em outros rios tropicais também sujeitos a antropização, os valores destes elementos estão aquém dos encontrados no presente estudo: Rio Xanaes, Córdoba, Argentina (Fe: 0,016 mg g⁻¹ em *Myriophyllum aquaticum*, Harguinteguy et al., 2013), Suquía, Argentina (Fe: 4,49 mg g⁻¹ *Stuckenia filiformis*, Harguinteguy et al., 2014), Rio Negro, Brasil (Fe: 0,0038 mg g⁻¹ no MPS, Alard et al., 2011), rio Cachoeira, Bahia, Brasil (Al: 1,13 mg g⁻¹ em raízes de *Eichhornia crassipes*, Al: 0,53 mg g⁻¹ em plantas inteiras de *Pistia stratiotes* e 1,13 mg g⁻¹ em raízes de *E. crassipes*, Klumpp et al., 2002), Trinity Brasil, Texas, EUA (Al: 100 mg g⁻¹ no MPS, Warnken & Santschi, 2009).

A tendência de diminuição da concentração de metal de fontes pontuais antropogênicas (efluentes industriais e urbanos) com o aumento do fluxo de água (estação chuvosa) é atribuída ao efeito de diluição das partículas de origem antropogênica pela entrada de partículas originadas dos solos e de partículas grosseiras ressuspensas dos sedimentos dos fundos dos rios

(Gonçalves & Carvalho, 2006; Carvalho et al., 1999). A maior concentração de metais na estação seca explicaria principalmente a dinâmica dos elementos oriundos de fontes antropogênicas pontuais, uma vez que estas fontes poluidoras tendem a ser constantes o ano todo (ex., esgoto doméstico e industrial). Os elementos que compõem naturalmente a bacia de drenagem tendem a ser carregados em maiores quantidades para os rios na estação chuvosa. A utilização de fertilizantes contendo diferentes concentrações de Pb, Ni, Cr, Cu, Cd e Zn na agricultura, pode causar impactos aos recursos hídricos das áreas adjacentes (Angelotti-Netto *et al.*, 2004). Nos rios Paraíba do Sul e Muriaé maiores concentrações de Fe foram encontradas no MPS na estação chuvosa, enquanto no rio Pomba, foram encontradas na estação seca. As maiores concentrações de Fe encontradas na estação seca no rio Pomba podem estar ligadas a atividade de extração e beneficiamento de rochas ornamentais que ocorrem durante todo o ano no entorno deste rio, gerando de resíduos abrasivos na forma de lama (Moreira et al., 2005; Vieira et al., 2006; Manhães & Holanda, 2008). Os resíduos da produção de rochas ornamentais são aproveitados para o desenvolvimento de produtos cerâmicos, cuja massa padrão é constituída por um alto teor de Fe_2O_3 (Moreira et al., 2005). Para a extração da argila para a confecção das cerâmicas é necessária a retirada da cobertura vegetal e assim o solo, rico em Fe, fica mais exposto e passível de erosão. Além disso, após a remoção da argila, as partículas soltas do solo podem promover o assoreamento dos recursos hídricos (Moreira et al., 2005). O acúmulo de partículas oriundas da extração de argila no rio pode ter sido um dos fatores a contribuir para a maior concentração de Fe no MPS do rio Pomba e nas raízes de *E. crassipes*. No MPS do rio Pomba foram encontradas também maiores concentrações de Cu e Mn na estação seca em comparação com os demais rios. Os elementos Cu, Fe, Mn, Ba, Pb, Cr, são encontradas em extratos de teste de solubilização de amostra de resíduos de rocha granítica ornamental (Manhães & Holanda, 2008). Devido ao fluxo reduzido e menor volume de água na estação seca, os metais originados da extração de rochas ou de outras fontes ficariam mais acumulados nesta estação.

Variações sazonais e espaciais na concentração de metais em *E. crassipes* foram evidenciadas neste componente da biota dos rios estudados. A PCA para raízes de *E. crassipes* mostrou a formação de grupos distintos de

amostras com variação sazonal no RPS e rio Muriaé. Entretanto, apesar desta tendência ter sido observada nas amostras do rio Pomba, a formação de grupos sazonais não foi tão evidente (círculos cinzas e escuros, Figura 2A). Isso pode ter sido causado pelo controle do fluxo de água no rio Pomba através de comportas de barragens e represas que existem nas hidrelétricas no município de Cataguases, localizada 78 km a montante do município de Santo Antônio de Pádua, onde foram coletados os indivíduos de *E. crassipes* (Vieira, 2013). A distribuição sazonal das amostras na PCA das raízes foi fortemente influenciada pela concentração de Fe, que como discutido anteriormente teria sua concentração aumentada no rio Pomba pelas atividades de extração de rochas e argila durante a estação seca. Na estação seca, a concentração de Fe nas raízes de *E. crassipes* do rio Pomba foi maior em comparação aos demais rios. No entanto, a concentração de Fe nas raízes de *E. crassipes* do rio Pomba seguiu o mesmo padrão sazonal dos demais rios com menor concentração na estação chuvosa. Outros elementos como Cu e Cr não apresentaram variação sazonal no rio Pomba, contribuindo para o resultado encontrado da PCA das raízes. A PCA das amostras da parte aérea também evidenciou um padrão sazonal e espacial de distribuição de metais. Os metais que mais contribuíram para a distribuição das amostras foram o Mg e Cu. O excesso de Mg (Brady et al., 2005) e Cu (Tanyolac et al., 2007) podem causar toxicidade em plantas, embora esses metais sejam considerados nutrientes para as plantas. A absorção e efluxo de metais nas células das plantas é coordenado com o objetivo de manter a homeostase. Para isto, as plantas codificam transportadores de metais que variam em suas especificidades, padrões de expressão e localização celular para sistematizar a translocação destes elementos (Colangelo & Guerinot 2006). A translocação de metais para a parte aérea é fortemente dependente da transpiração (Taiz & Zeiger, 2009), mas também é influenciada por outros fatores como a espécie vegetal, o metal e uma série de condições ambientais (Weis & Weis, 2004) como, por exemplo, variação da condutividade, pH e solubilidade do metal (Weis & Weis, 2004; Irie et al., 2008).

Em estudo conduzido em dois rios tropicais (Paraíba do Sul e Itabapoana), a formação de grupos sazonais referentes a concentração de metais foi mais evidente em raízes de *E. crassipes* do que na parte aérea

(Vitória et al., 2015). Isto contradiz em parte os dados do presente estudo, uma vez que as amostras de raízes das plantas do rio Pomba não foram agrupadas sazonalmente, mas se distribuíram num *continuum* entre estação seca e chuvosa. Entretanto, os metais do MPS do rio Pomba apresentaram as maiores diferenças sazonais na comparação com os outros rios. Uma possível explicação seria a reduzida diferença sazonal de transpiração dos indivíduos de *E. crassipes* do rio Pomba (Figura 3D). Isto reduziria a translocação dos metais das raízes para a parte aérea na estação chuvosa nas plantas do rio Pomba comparativamente as plantas dos outros rios, mantendo concentrações similares de metais nas raízes na estação seca e chuvosa.

A distribuição quantitativa para os metais no MPS foi semelhante a encontrada nas raízes de *E. crassipes*, assim como a mesma variação sazonal para alguns elementos, demonstrando que variações no MPS são refletidas nas concentrações das raízes desta espécie e respondendo positivamente a segunda questão. No entanto, a concentração de metais (Mn, Fe, Cu e Cr) no MPS do presente trabalho foi maior em comparação ao material particulado aderido nas raízes de *E. crassipes* do RPS e rio Imbé no estudo realizado por Campaneli et al. (2010).

Na parte aérea a reproducibilidade da distribuição dos elementos no MPS não ocorreu, devido a retenção preferencial da maioria dos elementos nas raízes. Maiores concentrações de metais nas raízes em comparação com as folhas são relatadas em vários estudos (Mishra & Tripathi, 2009; Paiva et al., 2009; Campaneli et al., 2010; Oliveira, 2012; Vitória et al., 2015). A imobilização de metais nas raízes é discutida como um meio de proteger o aparato fotossintético contra danos causados por metais (Brune et al., 1995). No presente estudo, apenas Mg esteve em maiores concentrações na parte aérea, o que é justificado pela seu papel importante na fotossíntese como átomo central da molécula de clorofila.

Na tabela 6 são mostradas as concentrações de metais em raiz e parte aérea de *E. crassipes* realizados por outros autores nos rios da região sudeste. Os valores de Fe, Mn, Cr e Cu foram diferentes em relação ao presente trabalho. Esse fato pode ter ocorrido por diversos fatores que incluem a vazão do rio, a utilização do solo ao entorno da bacia de drenagem e construções de barragens ao longo dos rios dentre outros.

Tabela 6. Concentrações de metais em *E. Crassipes* na região norte fluminense verificadas por outros autores. Estação seca (ES); Estação chuvosa (EC)

Rios	Parte da Planta	Al (mg g ⁻¹)		Fe (mg g ⁻¹)		Mg (mg g ⁻¹)		Mn (mg g ⁻¹)		Cr (µg g ⁻¹)		Cu (µg g ⁻¹)		Referências
		ES	EC	ES	EC	ES	EC	ES	EC	ES	EC	ES	EC	
BaixoParaíba do Sul	Raíz									27,6	27,4	16,7	14,9	Vitória et al., 2015
	Parte aérea	-	-	-	-	-	-	-	-	3,8	1,2	6,2	7,7	
Itabapoana	Raíz									24,4	19,1	13,3	13,5	Vitória et al., 2015
	Parte aérea	-	-	-	-	-	-	-	-	3,3	1,6	7,3	6,7	
Baixo Paraíba do Sul	Média da Planta	-	7,96	2,71		0,68	1,26	0,011	0,003	0,013	0,027			Campaneli et al., 2010
Médio Paraíba do Sul			6,12	5,54	-	1,43	1,00	0,002	0,07	0,023	0,014			
Alto Paraíba do Sul			2,78	2		1,82	2,15	0,004	0,002	0,01	0,014			
Imbé		-	1,7	3,15	-	3,16	2,03	0,002	0,003	0,012	0,009			
Imbé	Raíz									142				Paiva et al., 2009
	Parte aérea	-	-	-	-	-	-	-	-	3				
BaixoParaíba do Sul	Raíz									5,79				Vitória et al., 2011
	Folha + pecíolo	-	-	-	-	-	-	-	-	2,44				

Apesar das variações sazonais e espaciais nas concentrações de metais na parte aérea de *E. crassipes*, não foram observados indivíduos sob estresse fotossintético, o que responde nossa terceira questão. Os parâmetros da fluorescência da clorofila *a* (F_v/F_m e F_v/F_0) no presente estudo se encontram dentro dos limites de referência pré-estabelecidos para plantas não estressadas: 0.75 – 0.85 para F_v/F_m (Butler & Kitajima, 1975) e 4.0 – 6.0 para F_v/F_0 (Roháček, 2002). A maior dissipação de energia na forma de qP (em torno de 90%) evidencia que não houve necessidade de dissipação de energia como calor (NPQ e qNP), o que sugere que as variações nas condições ambientais não requereram ajustes fotoquímicos. A via de dissipação térmica é utilizada por *E. crassipes* como forma de manter seus rendimentos fotoquímicos em condições satisfatórias para o processo fotossintético quando a mesma necessita se ajustar a ambientes estressantes (Lage-Pinto et al., 2008). *E. crassipes* é tolerante a metais e capaz de acumular íons metálicos sem sofrer danos que comprometam a sua fisiologia (Ndimele et al., 2011; Gupta et al. 2012). Isto demonstra a grande tolerância desta espécie a metais, uma vez que mesmo habitando rios poluídos, sua capacidade de ajuste térmico para tolerar habitats contaminados por metais não precisou ser ativada.

Variações fotossintéticas sazonais e espaciais foram observadas em *E.*

crassipes, com o maior valor de assimilação de carbono observada em amostras da estação chuvosa (Figura 3 A).

Na estação chuvosa também foi verificada maior taxa de condutância estomática em *E. crassipes* dos rios em estudo. Com exceção de *E. crassipes* do PRS o conteúdo de carbono interno foi significativamente menor na estação chuvosa (Figura 3 B). As plantas reduzem a condutância estomática em resposta a déficits de pressão de vapor entre a folha e a atmosfera, levando as reduções de produtividade (Zhao & Running, 2010). Ao reduzir a condutância estomática, as plantas minimizam a perda de água para atmosfera e mantêm a hidratação das células das plantas mesmo com o aumento do déficit de pressão de vapor (Ocheltree et al., 2014). No entanto, ao reduzir a taxa de difusão de CO₂ para a folha, a diminuição da concentração interna de CO₂ resultam na redução da eficiência da fixação de carbono (Ocheltree et al., 2014).

A pressurização interna e fluxo de gás convectiva em aerênquima já estão bem estabelecidos como importantes para a adaptação de aeração para muitas plantas aquáticas que crescem no alagado (Armstrong & Armstrong, 2009). Durante os períodos de seca, as plantas fecham os estômatos para evitar a perda de água através da transpiração, mas a resultante diminuiu condutância estomática afeta negativamente as trocas gasosas, causando níveis de oxigênio intra-folha a subir e os níveis de dióxido de carbono a cair (Klooster & Palmer-Young 2004). Os estômatos de plantas fecham em resposta a diminuição da umidade relativa da atmosfera (Xie et al., 2006). Esse possivelmente é um mecanismo que impede a planta de perder o excesso de água, quando expostos a uma atmosfera seca (Xie et al., 2006). De acordo com Bunce 1985, o fechamento dos estômatos em elevado déficit de pressão de vapor é uma função da taxa de evaporação a partir da superfície exterior da epiderme. Quando a umidade em volta da folha é reduzida em poucos minutos a condutância estomática reduz (Monteith, 1995; Oren et al, 1999). Talvez devido a menor umidade relativa do ar na estação seca em comparação a estação chuvosa ocorreu a redução da condutância estomática nas folhas de *E. crassipes* e consequente redução da assimilação de carbono na estação seca.

Maiores concentrações de Cr e Cu na parte aérea durante a estação chuvosa não tiveram efeito danoso no processo fotossintético, apesar do aumento destes elementos ter sido considerável: cerca de 50% no rio Muriaé para Cr, e cerca de 40 a 60% considerando todos os rios para Cu. Isto sugere que mesmo com o aumento de suas concentrações, na estação chuvosa estes elementos ainda estariam em concentrações aceitáveis e/ou ideais para o metabolismo vegetal. Cr é um elemento não essencial a fisiologia vegetal. Entretanto, a depender da sua especiação química e concentração ele promove um incremento na assimilação de carbono em *E. crassipes* (Paiva et al., 2009) e estimula a atividade fotossintética (El-Bassam, 1978; González et al., 2014). O mecanismo fisiológico pelo qual a melhoria fotossintética ocorre na presença de Cr ainda não foi elucidado, mas alteração na proporção de poliaminas (espermidina, espermina e putrescina) tem sido sugerida como um eficiente mecanismo para estabilizar o fotossistema II na presença de metais e outros fatores abióticos que possam ser estressantes (Hamdani et al., 2011).

5. CONCLUSÕES

A distribuição quantitativa de metais no MPS pode ser avaliada a partir de amostras de raízes de *E. crassipes* (e vice-versa), uma vez que ambos refletem as variações sazonais e espaciais aos quais o ecossistema está exposto.

Maiores concentrações de Cr e Cu na parte aérea durante a estação chuvosa não tiveram efeito danoso no processo fotossintético, apesar do aumento destes elementos ter sido considerável, sugerindo que mesmo com o aumento de suas concentrações, na estação chuvosa estes elementos ainda estariam em concentrações aceitáveis e/ou ideais para o metabolismo vegetal. No presente estudo, apenas Mg esteve em maiores concentrações na parte aérea, o que é justificado pela seu papel importante na fotossíntese como átomo central da molécula de clorofila.

Enquanto a assimilação de carbono em *E. crassipes* é fortemente influenciada pela sazonalidade, a etapa fotoquímica da fotossíntese é insensível a variação sazonal. A sazonalidade influenciou a assimilação de carbono por *E. crassipes* possivelmente pela variação do déficit de pressão de que está relacionado a abertura e fechamento dos estômatos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida, M. G., & Souza, C. M. M. (2012). Distribuição espacial de mercúrio total e elementar e suas interações com carbono orgânico, área superficial e distribuição granulométrica em sedimentos superficiais da bacia inferior do Rio Paraíba do Sul, RJ, Brasil. *Geochimica Brasiliensis*, 22(3): 140-158.
- Almeida, M. G., & Souza, C. M. M. (2008). Distribuição espacial de mercúrio total e elementar e suas interações com carbono orgânico, área superficial e distribuição granulométrica em sedimentos superficiais da bacia inferior do Rio Paraíba do Sul, RJ, Brasil. *Geochimica Brasiliensis*, 22, 140-158.
- Almeida, M. G., Rezende, C. E., & Souza, C. M. (2012). Variação temporal, transporte e partição de Hg e carbono orgânico nas frações particulada e dissolvida da coluna d'água da bacia inferior do Rio Paraíba do Sul, RJ, Brasil. *Geochimica Brasiliensis*, 21(1): 111-128.
- Armstrong J, Armstrong W. (2009). Record rates of pressurized gas-flow in the great horsetail, *Equisetum telmateia*. Were Carboniferous Calamites similarly aerated? *New Phytologist* 184: 202–215.
- Angelotti-Netto, A., Crestana, S., De Oliveira, S. C., & Barbosa, R. V. R. (2004). Metais pesados provenientes de atividade agrícola: formas, prevenção e controle. *Bacia hidrográfica: diversas abordagens de pesquisa. Série Ciências da Engenharia Ambiental. São Carlos, Editora RiMa*, 3, 1-16.
- Araujo, B. F., Carvalho, C. E. V., Andrade, D. R., Gomes, R. S., & Souza, C. T. (2010). Total Mercury Distribution in Muscular Tissue of *Hypostomus affinis* (Steindachner, 1877) and *Hypostomus cf luetkini* (Barlenger, 1887) from Muriaé River, Itaperuna–RJ. *Ecotoxicology and Environmental Contamination*, 5(1): 49-54.
- Beltrame, M. O., De Marco, S. G., & Marcovecchio, J. E. (2009). Dissolved and particulate heavy metals distribution in coastal lagoons. A case study from Mar Chiquita Lagoon, Argentina. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 85(1): 45-56.
- Belluta, I., Celho, J. C., Silva, R. F. B., Carvalho, L. R. D., Silva, A. M. M. D., & Valente, J. P. S. (2014). Investigação da poluição por metais tóxicos no córrego do Cintra. *Irriga*, 225-244.
- Bonal D, Bosc A, Ponton S, Goret J-Y, Burban B, Gross P, Bonnefond J-M, Elbers J, Longdoz B, Epron D, Guehl J-M, Granier A. (2008). Impact of

- severe dry season on net ecosystem exchange in the Neotropical rainforest of French Guiana. *Global Change Biology*, 14(8), 1917-1933.
- Brady, K. U., Kruckeberg, A. R., & Bradshaw Jr, H. D. (2005). Evolutionary ecology of plant adaptation to serpentine soils. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 243-266.
- Brune, A., Urbach, W., & DIETZ, K. J. (1995). Differential toxicity of heavy metals is partly related to a loss of preferential extraplasmic compartmentation: a comparison of Cd²⁺, Mo⁶⁺, Ni²⁺ and Zn²⁺ stress. *New Phytologist*, 129(3): 403-409.
- Burzyński, M., & Żurek, A. (2007). Effects of copper and cadmium on photosynthesis in *Cucumber* cotyledons. *Photosynthetica*, 45(2): 239-244.
- Butler, W. L., & Kitajima, M. (1975). A tripartite model for chloroplast fluorescence. In *Proceedings of the 3rd International Congress on Photosynthesis*. P. 13-24.
- Campaneli, L. B., de Souza, C. M. M., de Souza Ribeiro, T., Rezende, C. E., de Azevedo, R. A., de Almeida, M. G., & Vitória, A. P. (2010). Variação espaço-temporal de metais em aguapé [*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms)], material particulado aderido às raízes de aguapé e no sedimento em dois rios do sudeste brasileiro. *Biotemas*, 23(4): 119-128.
- Carvalho C.E.V., 1992. *Distribuição de metais pesados na plataforma continental Nordeste e Sudeste do Brasil*. Dissertação (Mestrado em Geoquímica): Niterói-RJ, Universidade Federal Fluminense- UFF, 91 p.
- Carvalho, C. E. V., Ovalle, A. R. C., Rezende, C. E., Molisani, M. M., Salomão, M. S. M. B., & Lacerda, L. D. (1999). Seasonal variation of particulate heavy metals in the Lower Paraíba do Sul River, RJ, Brazil. *Environmental geology*, 37(4): 297-302.
- Carvalho, C. E. V., Salomão, M. S. M. B., Molisani, M. M., Rezende, C. E., & Lacerda, L. D. (2002). Contribution of a medium-sized tropical river to the particulate heavy-metal load for the South Atlantic Ocean. *Science of the Total Environment*, 284(1): 85-93.
- Clemens, S. (2006). Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. *Biochimie*, 88(11): 1707-1719.

- Colangelo, E. P., & Guerinot, M. L. (2006). Put the metal to the petal: metal uptake and transport throughout plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 9(3): 322-330.
- Dhir, B., & Srivastava, S. (2011). Heavy metal removal from a multi-metal solution and wastewater by *Salvinia natans*. *Ecological engineering*, 37(6): 893-896.
- Dhir, B., Sharmila, P., & Saradhi, P. P. (2009). Potential of aquatic macrophytes for removing contaminants from the environment. *Critical Reviewseviews in Environmental Science and Technology*, 39(9): 754-781.
- Diwan, H., Ahmad, A., & Iqbal, M. (2010). Uptake-related parameters as indices of phytoremediation potential. *Biologia*, 65(6): 1004-1011.
- Dnaee & Dbe. Departamento Nacional de Águas e Energia Elétrica e DB Enviroment,1995. Projeto Paraíba do Sul: Relatório Síntese da Fase B. Rio de Janeiro. Ministério de Minas e Energia, 188p.
- Do Nascimento, C. A., & Naime, R. (2009). Panorama do uso, distribuição e contaminação das águas superficiais no Arroio Pampa na bacia do Rio dos Sinos. *Estudos Tecnológicos em Engenharia*, 5(1): 101-120.
- Eggleton, J., & Thomas, K. V. (2004). A review of factors affecting the release and bioavailability of contaminants during sediment disturbance events. *Environment International*, 30(7): 973-980.
- Eid, E. M., Shaltout, K. H., El-Sheikh, M. A., & Asaeda, T. (2012). Seasonal courses of nutrients and heavy metals in water, sediment and above-and below-ground *Typha domingensis* biomass in Lake Burullus (Egypt): perspectives for phytoremediation. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of plants*, 207(11): 783-794.
- El Bassam, N. (1978). Spurenelemente: Naehrstoffe und Gift zugleich. *Kali Briefe*. 14(4): 255–272.
- Filgueiras, A. V., Capelo, J. L., Lavilla, I., & Bendicho, C. (2000). Comparison of ultrasound-assisted extraction and microwave-assisted digestion for determination of magnesium, manganese and zinc in plant samples by flame atomic absorption spectrometry. *Talanta*, 53(2): 433-441.
- Fukurozaki, S.H. & Seo, E.S.M., 2014. Uso e cobrança da água na bacia do rio Paraíba do Sul. Uma avaliação do instrumento da política nacional dos recursos hídricos no contexto da gestão ambiental. Congresso brasileiro

de ciência e tecnologia em resíduos e desenvolvimento sustentável
Costão do Santinho – Florianópolis – Santa Catarina, p. 11.

- Gonçalves, G. M., & Carvalho, C. E. V. (2006). Particulate heavy metal dynamics in a tropical estuary under distinct river discharge and tidal regimes, Southeastern, Brazil. *Journal of Coastal Research*, 1032-1035.
- González, C. I., Maine, M. A., Cazenave, J., Sanchez, G. C., & Benavides, M. P. (2015). Physiological and biochemical responses of *Eichhornia crassipes* exposed to Cr (III). *Environmental Science and Pollution Research*, 22(5): 3739-3747.
- Guedes, H. A., Silva, D. D., Elesbon, A. A., Ribeiro, C. B., Matos, A. T., & Soares, J. H. (2012). Aplicação da análise estatística multivariada no estudo da qualidade da água do Rio Pomba, MG. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 16(5): 558-563.
- Gupta, P., Roy, S., & Mahindrakar, A. B. (2012). Treatment of water using water hyacinth, water lettuce and vetiver grass-A review. *Resources and Environment*, 2(5): 202-215.
- Hamdani, S., Yaakoubi, H., & Carpentier, R. (2011). Polyamines interaction with thylakoid proteins during stress. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 104(1), 314-319.
- Harguinteguy, C. A., Cirelli, A. F., & Pignata, M. L. (2014). Heavy metal accumulation in leaves of aquatic plant *Stuckenia filiformis* and its relationship with sediment and water in the Suquía river (Argentina). *Microchemical Journal*, 114, 111-118.
- Harguinteguy, C. A., Schreiber, R., & Pignata, M. L. (2013). *Myriophyllum aquaticum* as a biomonitor of water heavy metal input related to agricultural activities in the Xanaes River (Córdoba, Argentina). *Ecological Indicators*, 27, 8-16.
- Heywood, V. H., 1993 . *Flowering Plants of the World* (No. Ed. 2). BT Batsford Ltd. p. 309–311
- Hoening, M., Baeten, H., Vanhentenriek, S., Vassileva, E., & Quevauviller, P. (1998). Critical discussion on the need for an efficient mineralization procedure for the analysis of plant material by atomic spectrometric methods. *Analytica Chimica Acta*, 358(1): 85-94.

- Huguenin, F.P. S., 2006. Desastres ambientais no rio Paraíba do Sul do ponto de vista dos pescadores de Gargaú: dramas e 'ofensas' para uma antropologia política. Dissertação (Mestrado em Políticas Sociais): Campos dos Goytacazes, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, p. 144.
- INMET, 2015. <http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=tempo/graficos>. Acessado em 12 de dezembro de 2015.
- Iori, V., Pietrini, F., Massacci, A., & Zacchini, M. (2015). Morphophysiological Responses, Heavy Metal Accumulation and Phytoremoval Ability in Four Willow Clones Exposed to Cadmium Under Hydroponics. In *Phytoremediation*, 87-98.
- Irie, C. N., Kavamura, V. N., Esposito, E., & Ambiental, B. (2008). Avaliação do potencial da embaúba (*Cecropia cf. pachystachya* Trécul) para recuperação de solos contaminados com metais pesados. In *Congresso de iniciação científica Universidade de Mogi das Cruzes* 11: 1-5.
- Jitar, O., Teodosiu, C., Oros, A., Plavan, G., & Nicoara, M. (2015). Bioaccumulation of heavy metals in marine organisms from the Romanian sector of the Black Sea. *New biotechnology*, 32(3), 369-378.
- Klumpp, A., Bauer, K., Franz-Gerstein, C., & de Menezes, M. (2002). Variation of nutrient and metal concentrations in aquatic macrophytes along the Rio Cachoeira in Bahia (Brazil). *Environment International*, 28(3): 165-171.
- Konieczynski, P., & Wesolowski, M. (2012). Water-extractable magnesium, manganese and copper in leaves and herbs of medicinal plants. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 69(1): 33-39.
- Krüger, G., Carvalho, C., Ferreira, A. G., Gonçalves, E., Truccolo, E., & Schettini, C. A. F. (2003). Dinâmica de carbono orgânico dissolvido no estuário do Rio Paraíba do Sul, RJ, sob diferentes condições de maré e descarga fluvial. *Atlântica*, 25(1): 27-33.
- Kuokkanen, K., Julkunen-Tiitto, R., Keinänen, M., Niemelä, P., & Tahvanainen, J. (2001). The effect of elevated CO₂ and temperature on the secondary chemistry of *Betula pendula* seedlings. *Trees*, 15(6): 378-384.
- Lage-Pinto, F., Oliveira, J. G., Da Cunha, M., Souza, C. M., Rezende, C. E., Azevedo, R. A., & Vitória, A. P. (2008). Chlorophyll a fluorescence and ultrastructural changes in chloroplast of water hyacinth as indicators of

- environmental stress. *Environmental and Experimental Botany*, 64(3): 307-313.
- Lesage, E., Mundia, C., Rousseau, D. P. L., Van de Moortel, A. M. K., Du Laing, G., Meers, E., & Verloo, M. G. (2007). Sorption of Co, Cu, Ni and Zn from industrial effluents by the submerged aquatic macrophyte *Myriophyllum spicatum* L. *Ecological Engineering*, 30(4): 320-325.
- Malar, S., Sahi, S. V., Favas, P. J., & Venkatachalam, P. (2015). Mercury heavy-metal-induced physiochemical changes and genotoxic alterations in water hyacinths [*Eichhornia crassipes* (Mart.)]. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(6): 4597-4608.
- Malec, P., Mysliwa-Kurdziel, B., Prasad, M. N. V., Waloszek, A., & Strzałka, K. (2011). Role of aquatic macrophytes in biogeochemical cycling of heavy metals, relevance to soil-sediment continuum detoxification and ecosystem health. In *Detoxification of heavy metals*, 345-368. Ed. Irena Sherameti; Ajit Varma. Inst. Allgemeine Botanik. Pflanzenphys, Universität Jena. Amity Institute of Microbial Sciences, Amity University Uttar Pradesh.
- Manhães, J. P. V. T., & Holanda, J. N. F. D. (2008). Characterization and classification of granitic rock powder solid waste produced by ornamental rock industry. *Química Nova*, 31(6): 1301-1304.
- Marchand, L., Mench, M., Jacob, D. L., & Otte, M. L. (2010). Metal and metalloid removal in constructed wetlands, with emphasis on the importance of plants and standardized measurements: a review. *Environmental Pollution*, 158(12): 3447-3461.
- Marengo, J. A., & Alves, L. M. (2005). Tendências hidrológicas da bacia do rio Paraíba do Sul. *Revista Brasileira de Meteorologia*, 20(2): 215-226.
- Marengo, J. A., Nobre, C. A., Tomasella, J., Oyama, M. D., Sampaio de Oliveira, G., De Oliveira, R., Camargo, H., Alves, L.M., Brown, I.F. (2008). The drought of Amazonia in 2005. *Journal of Climate*, 21(3): 495-516.
- Miretzky, P., Saralegui, A., & Cirelli, A. F. (2006). Simultaneous heavy metal removal mechanism by dead macrophytes. *Chemosphere*, 62(2): 247-254.
- Mishra, V. K., & Tripathi, B. D. (2009). Accumulation of chromium and zinc from aqueous solutions using water hyacinth (*Eichhornia crassipes*). *Journal of Hazardous Materials*, 164(2): 1059-1063.

- Mishra, V. K., Upadhyaya, A. R., Pandey, S. K., & Tripathi, B. D. (2008). Heavy metal pollution induced due to coal mining effluent on surrounding aquatic ecosystem and its management through naturally occurring aquatic macrophytes. *Bioresource Technology*, 99(5): 930-936.
- Molisani, M. M., Salomão, M. S. M. B., & Ovalle, A. R. C. (2012). Partitioning of metals in sediments from the lower Paraíba do sul river, SE, Brazil. *Geochimica Brasiliensis*, 19(1): 48-59.
- Moreira, J. M. S., Manhães, J. P. V. T., & Holanda, J. N. F. (2005). Reaproveitamento de resíduo de rocha ornamental proveniente do Noroeste Fluminense em cerâmica vermelha. *Cerâmica*, 51(319): 180-186.
- Naseri, M., Vazirzadeh, A., Kazemi, R., & Zaheri, F. (2015). Concentration of some heavy metals in rice types available in Shiraz market and human health risk assessment. *Food Chemistry*, 175:243-248.
- Ndimele, P. E., & Jimoh, A. A. (2011). Water hyacinth (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms.) in phytoremediation of heavy metal polluted water of Ologe Lagoon, Lagos, Nigeria. *Research Journal of Environmental Sciences*, 5(5):424-433.
- Núñez, J. E. V., Amaral Sobrinho, N. M. B., Palmieri, F., & Mesquita, A. A. (1999). Consequências de diferentes sistemas de preparo do solo sobre a contaminação do solo, sedimentos e água por metais pesados. *Revista brasileira de ciência do solo*, 23(04): 981-990.
- Ocheltree, T. W., Nippert, J. B., & Prasad, P. V. V. (2014). Stomatal responses to changes in vapor pressure deficit reflect tissue-specific differences in hydraulic conductance. *Plant, Cell & Environment*, 37(1), 132-139.
- Oliveira, H. (2012). Chromium as an environmental pollutant: insights on induced plant toxicity. *Journal of Botany*, 2012:1-8.
- Ovalle, A. R. C., Silva, C. F., Rezende, C. E., Gatts, C. E. N., Suzuki, M. S., & Figueiredo, R. O. (2013). Long-term trends in hydrochemistry in the Paraíba do Sul River, southeastern Brazil. *Journal of Hydrology*, 481:191-203.
- Paiva, L. B., de Oliveira, J. G., Azevedo, R. A., Ribeiro, D. R., da Silva, M. G., & Vitória, A. P. (2009). Ecophysiological responses of water hyacinth

- exposed to Cr 3⁺ and Cr 6⁺. *Environmental and Experimental botany*, 65(2): 403-409.
- Pereira, F. J., Castro, E. M., Oliveira, C., Pires, M. F., & Pasqual, M. (2011). Anatomical and physiological mechanisms of water hyacinth plants to Arsenic contamination tolerance. *Planta Daninha*, 29(2), 259-267.
- Periáñez, R. (2009). Environmental modelling in the Gulf of Cadiz: heavy metal distributions in water and sediments. *Science of the Total Environment*, 407(10): 3392-3406.
- Prado, R. B., Dantas, M. E., Fidalgo, E. C. C., Gonçalves, A. O., SILVEIRA, M. D., VICENTE, P. & Dourado, F. (2005). Diagnóstico do meio físico da bacia hidrográfica do Rio Muriaé. *Embrapa Solos*. 75p.
- Radambrasil. 1983. Levantamento de Recursos Naturais, folha SF. 23/24 Rio de Janeiro/Vitória; geologia, geomorfologia, pedologia, vegetação e uso potencial da terra. Ministério das Minas e Energia, Rio de Janeiro, 32(6) 780.
- Rai, P. K. (2009). Heavy metal phytoremediation from aquatic ecosystems with special reference to macrophytes. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 39(9): 697-753.
- Rajkumar, M., Ae, N., & Freitas, H. (2009). Endophytic bacteria and their potential to enhance heavy metal phytoextraction. *Chemosphere*, 77(2): 153-160.
- Roháček, K. (2002). Chlorophyll fluorescence parameters: the definitions, photosynthetic meaning, and mutual relationships. *Photosynthetica*, 40(1): 13-29.
- Salomão, M. S. M. B., Molisani, M. M., Ovalle, A. R. C., Rezende, C. E., Lacerda, L. D., & Carvalho, C. E. V. (2001). Particulate heavy metal transport in the lower Paraíba do Sul River basin, southeastern, Brazil. *Hydrological Processes*, 15(4): 587-593.
- Shanker, A. K., Djanaguiraman, M., Sudhagar, R., Chandrashekar, C. N., & Pathmanabhan, G. (2004). Differential antioxidative response of ascorbate glutathione pathway enzymes and metabolites to chromium speciation stress in green gram (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek roots. *Plant Science*, 166(4): 1035-1043.

- Shu, X., Zhang, Q., & Wang, W. (2014). Effects of temperature and light intensity on growth and physiology in purple root water hyacinth and common water hyacinth (*Eichhornia crassipes*). *Environmental Science and Pollution Research*, 21(22): 12979-12988.
- Sinha, S., Singh, S., Mallick, S., & Sinam, G. (2009). Role of antioxidants in Cr tolerance of three crop plants: metal accumulation in seeds. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(4): 1111-1121.
- Sood, A., & Ahluwalia, A. S. (2009). Cyanobacterial–plant symbioses with emphasis on Azolla-Anabaena symbiotic system. *Indian Fern Journal*, 26, 166-178.
- Taiz, L. and Zeiger, E., 2009. *Fisiologia vegetal*. 5ª Ed. Artimed. 819 p.
- Tanyolaç, D., Ekmekçi, Y., & Ünalın, Ş. (2007). Changes in photochemical and antioxidant enzyme activities in maize (*Zea mays* L.) leaves exposed to excess copper. *Chemosphere*, 67(1): 89-98.
- Tüzen, M. (2003). Determination of heavy metals in fish samples of the middle Black Sea (Turkey) by graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Food Chemistry*, 80(1): 119-123.
- USEPA, EPA. (1995). Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils, and oils. *Test methods for evaluating solid waste: method 3051*.
- USEPA, EPA., (1995). Microwave assisted acid digestion of siliceous and organically based matrices. *Test methods for evaluating solid waste: method 3052*. 20 p.
- Vargas, M. A. B. P. & Damiance, A. A., (2003). O processo de Formação de Comitê: A experiência do Comitê das Sub-bacias Hidrográficas dos Rios Pomba e Muriaé. In: Estado das Águas no Brasil. Agência Nacional de Água - ANP, Brasília, DF.
- Vargas, T., Motoki, A., & Neves, J. L. P. (2001). Rochas ornamentais do Brasil, seu modo de ocorrência geológica, variedade tipológica, exploração comercial e utilidades como materiais nobres de construção. *Revista de Geociências*, 2(2): 119-132.
- Vieira, C. M. F., Henriques, D. N., Peiter, C. C., Carvalho, E. A., Monteiro, S. N., Ipê, A., & da Cidade Universitária, I. (2006). Utilização de gnaiss fino em massa cerâmica para telhas. *Revista Matéria*, 11(3): 211-216.

- Vieira, S. D., (2013). Logística Humanitária Para Amenizar as Consequências das Inundações em Santo Antônio de Pádua. Tese: Rio de Janeiro, PUC-Rio.
- Vitória, A. P., da Silva Santos, J. L., Salomão, M. S. M. B., de Oliveira Vieira, T., Da Cunha, M., Pireda, S. F., & Rabelo, G. R. (2015). Influence of ecologic type, seasonality, and origin of macrophyte in metal accumulation, anatomy and ecophysiology of *Eichhornia crassipes* and *Eichhornia azurea*. *Aquatic Botany*, 125: 9-16.
- Warnken, K. W., & Santschi, P. H. (2009). Delivery of Trace Metals (Al, Fe, Mn, V, Co, Ni, Cu, Cd, Ag, Pb) from the Trinity River Watershed Towards the Ocean. *Estuaries and Coasts*, 32(1): 158-172.
- Weis, J. S., & Weis, P. (2004). Metal uptake, transport and release by wetland plants: implications for phytoremediation and restoration. *Environment International*, 30(5): 685-700.
- Yang, J., & Ye, Z. (2009). Metal accumulation and tolerance in wetland plants. *Frontiers of Biology in China*, 4(3): 282-288.
- Yang, L. T., Yang, G. H., You, X., Zhou, C. P., Lu, Y. B., & Chen, L. S. (2013). Magnesium deficiency-induced changes in organic acid metabolism of *Citrus sinensis* roots and leaves. *Biologia Plantarum*, 57(3): 481-486.
- Yao, H., Qian, X., Gao, H., Wang, Y., & Xia, B. (2014). Seasonal and spatial variations of heavy metals in two typical Chinese rivers: concentrations, environmental risks, and possible sources. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 11(11): 11860-11878.
- You, W. H., Yu, D., Xie, D., & Yu, L. F. (2013). Overwintering survival and regrowth of the invasive plant *Eichhornia crassipes* are enhanced by experimental warming in winter. *Aquatic Biology*, 19(1): 45.
- Zampier, I. C. (2014). Além das águas: Um retrato dos atingidos pelas enchentes do Rio Muriaé. Monografia (Bacharel em Jornalismo); Viçosa, Universidade Federal de Viçosa.
- Zhao M. & Running S.W. 2010. Drought-induced reduction in global terrestrial net primary production from 2000 through 2009. *Science* 329, 940–943.

**CAPÍTULO III: AUMENTO DA ASSIMILAÇÃO DE C EM *Eichornia crassipes*:
INFLUÊNCIA DOS RIOS DE ORIGEM E POLIAMINAS PARA A RESPOSTA
ECOFISIOLÓGICA**

RESUMO

O Cr^{3+} não é um nutriente essencial para as plantas. No entanto, estudos relatam o aumento da assimilação de C em algumas espécies quando da exposição a Cr^{3+} e outros efeitos benéficos nestes organismos. O presente estudo teve como objetivo elucidar se as poliaminas putrescina (PUT), espermidina (SPD) e espermina (MPS) e alterações ultraestruturais foliares (dados em colaboração) contribuem para maior assimilação de C em *Eichhornia crassipes*. Esta espécie é hiperacumuladora de metais e tem se mostrado um excelente modelo de estudo, uma vez que tolera ambientes letais para outras espécies. Visando avaliar a influência do ambiente de origem das plantas nas respostas, *E. crassipes* foi coletada em três rios (baixo Paraíba do sul - RPS, Muriaé e Pomba) e exposta experimentalmente a 1 mM de Cr_2O_3 (Cr^{3+}) por quatro e oito dias. Trocas gasosas, poliaminas, e alterações ultraestruturais foram aferidas em folhas e quantificado Cr em raízes e folhas de *E. crassipes*. A concentração de Cr^{3+} total em *E. crassipes* aumentou conforme o tempo de exposição ao metal. Com exceção de *E. crassipes* do rio Pomba, os valores de assimilação de C aumentaram no quarto dia de exposição à Cr^{3+} . O conteúdo de PUT, SPM e SPD variaram em *E. crassipes* apenas no oitavo dia de exposição ao Cr^{3+} não explicando o aumento de assimilação de C verificado no quarto dia. Alterações ultraestruturais foliares (Apêndice) de *E. crassipes* expostas ao Cr^{3+} , tais como, aumento do volume do estroma, afrouxamento dos tilacóides e presença de plastoglobulos poderiam ter conferido maior normalidade ao processo fotossintético ou promovido a melhoria do fluxo de elétrons durante a fotossíntese.

Palavras-chave: macrófita aquática flutuante livre, hiperacumuladora, trocas gasosas, Pomiaminas.

1. INTRODUÇÃO

Os metais são importantes poluentes inorgânicos, como resultado de sua recalcitrância e persistência no ambiente, alta toxicidade e acumulação através da cadeia alimentar (Ferraz *et al.*, 2005). O cromo (Cr) é um elemento natural encontrado na crosta terrestre (Dheeba *et al.*, 2014). O Cr é o vigésimo primeiro elemento mais abundante na crosta terrestre e o sexto metal de transição mais abundante (Barnhart, 1997). Cromo é um dos principais poluentes em águas residuais, resultantes de aplicações agrícolas e industriais, tais como galvanoplastia, curtimento de couro, e corante têxtil (Sreeram *et al.*, 2004., Rehman *et al.*, 2008., Belay *et al.*, 2010., Dheeba *et al.*, 2014), mineração, refino de petróleo, e produção de fitas magnéticas. (Gao & Xia 2011).

Cromo pode ser detectado em diversos estados de oxidação (Cr^{0+} , Cr^{1+} , Cr^{2+} , Cr^{3+} , Cr^{4+} , Cr^{5+} , Cr^{6+}) (Zayed *et al.*, 1998., Santos *et al.*, 2009; Augustnowicz *et al.*, 2010). Entretanto, o Cr^{3+} e Cr^{6+} são as espécies que causam maiores impactos ambientais, devido à sua estabilidade e ampla distribuição em ambientes aquáticos (Ferraz *et al.*, 2005). O Cr^{3+} é reconhecido como um nutriente essencial para os animais, e em baixas concentrações é usado como um suplemento nutricional (Zayed & Terry, 2003., Eastmond *et al.*, 2008). Em plantas, Cr é um elemento não essencial (Chatterjee *et al.*, 2015) e pode interferir no crescimento e o desenvolvimento, reduzindo a taxa de germinação, bem como o crescimento de raízes, caules e folhas (Allué *et al.*, 2014). Sua ação maléfica também causa efeitos deletérios sobre a fotossíntese, relações hídricas e nutrição mineral (Shanker *et al.*, 2005., Nagajyoti *et al.*, 2010), além de gerar alterações morfológicas (Rodriguez *et al.*, 2012., Daud *et al.*, 2014). Entretanto, já foram relatados efeitos benéficos do Cr como propriedades antifúngicas e estímulo ao crescimento (Barceló *et al.*, 1993), estímulo da síntese de clorofila e atividade fotossintética (El-Bassam, 1978) e aumenta a assimilação de C (Paiva *et al.*, 2009). Entretanto, até o momento não está elucidada qual seria sua função no metabolismo vegetal (Dixit *et al.*, 2002., Ghosh e Singh, 2005).

Alterações nas concentrações de poliaminas totais (PAs) e na proporção entre as principais PAs (Zhang et al., 2010) tem sido descritas como respostas a exposição a metais (Sharma e Dietz 2006). Poliaminas são compostos alifáticos de nitrogênio, de baixo peso molecular com dois ou mais grupos amino presente em todos os organismos vivos (Groppa & Benavides, 2008). Elas possuem cargas positivas em seus átomos de nitrogênio, facilitando a sua interação com moléculas de DNA, RNA e fosfolípidios (Baron e Stasolla, 2008). Alguns dos genes envolvidos na biossíntese de PAs são encontrados no cloroplasto o que sugere sua possível relação com processos fotossintéticos (Bortolotti et al., 2004). A interação de proteínas com as PAs nos tilacóides durante vários tipos de estresse (salinidade, ozônio, metal, dentre outros) confere maior tolerância à planta (Hamdani et al., 2011). Ainda segundo os autores acima, elevadas concentrações de PAs (5mM de Putrescina - PUT; 2,5 mM Espermina - SPM) causam perda significativa de atividade no fotossistema II (FS II), enquanto que baixas concentrações, especialmente de SPM (0,20 µM), estabilizam o FS II.

Eichhornia crassipes, macrófita aquática considerada hiperacumuladora de metais, aumenta a assimilação de C quando exposta a Cr³⁺, e este aumento não está relacionado ao teor de pigmentos (Paiva et al., 2009). A hipótese desse trabalho é que PAs estariam envolvidas no aumento da assimilação de C quando da exposição a Cr³⁺. Neste sentido, plantas que crescem em rios mais poluídos expressariam continuamente sua resposta (fisiológicas e/ou ultraestrutural) de tolerância a metais.

O objetivo desse trabalho foi utilizar a espécie modelo *E. crassipes* proveniente dos rios Paraíba do Sul, Muriaé e Pomba para responder as seguintes questões: 1) o rio de origem afeta a assimilação de C em plantas expostas a Cr³⁺? 2) poliaminas influenciam na maior assimilação de C após exposição a Cr³⁺? 3) alterações ultraestruturais também estariam envolvidas na melhoria da assimilação de C após exposição a Cr³⁺?

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material vegetal e locais de coleta

Eichhornia crassipes (Mart.) Solms foi coletada em julho de 2013 em três rios no Estado do RJ, Brasil: porção inferior do rio Paraíba do Sul (baixo RPS),

na região central do município de Campos dos Goytacazes (S: 21°76'03°, W: 41°28'15°); rio Muriaé, no município de Cardoso Moreira (S: 21°49'00°, W: 41°63'26°); e rio Pomba, localizado no município de Santo Antônio de Pádua (S: 21°53'63°, W: 42°15'55°) (Figura 1 do Capítulo II). Os indivíduos foram coletados manualmente com auxílio de barcos em três pontos diferentes de cada rio e transportadas em caixas plásticas para o laboratório, onde foram lavados em água deionizada para retirada de material aderido.

2.2. Condições experimentais

Trinta e seis indivíduos de cada rio foram acondicionados por 5 dias em unidades experimentais contendo 5L de solução nutritiva com pH em torno de 6 (Hoagland e Arnon, 1950) em casa de vegetação com aeração artificial. Após este período, foi adicionada solução concentrada de Cr₂O₃ (Cr³⁺) para obtenção de concentração final de 1 mM de Cr³⁺. Os tempos de exposição ao Cr³⁺ foram de 4 e 8 dias. Análises no tempo zero também foram conduzidas. Para cada tempo/tratamento foram utilizados seis indivíduos (n=6). O mesmo desenho experimental foi utilizado para os indivíduos dos três rios.

2.3. Determinação da concentração de Cr total

Após a aferição dos dados de trocas gasosas (item 2.5) ao final dos dias 0, 4 e 8 de exposição a Cr³⁺, as plantas foram lavadas cuidadosamente para a retirada do material adsorvido nas raízes. Posteriormente, os indivíduos foram divididos em raízes e folhas e colocados em estufa de circulação de ar (Marconi – MA035- Brasil) a 60 °C por 4 dias. Após a secagem, o material vegetal foi macerado e do material fino resultante foi feita a digestão ácida para quantificação de metais. Três réplicas de cada uma das amostras foram digeridas e analisadas. A digestão ácida para extração de Cr total foi realizada por 15 horas em bombas de teflon a partir de 0,5 g de amostra seca acrescida de 10 mL de ácido nítrico (65% HNO₃) e 4 mL de ácido fluorídrico (48% HF). Posteriormente, as bombas foram aquecidas em bloco digestor a 130°C por cerca de 6 horas. Após o resfriamento (30 min), foram adicionados 10 mL de solução a 4% de ácido bórico (H₃BO₃) para neutralização do HF e as bombas foram levadas novamente ao bloco digestor por 1 hora a 80 °C. O extrato final foi filtrado em papel Whatman 40 e o volume final foi completado para 20 ml em

balão volumétrico usando ácido nítrico (HNO₃ 0,5 N) segundo descrito por Filgueiras et al., 2000. As determinações de Cr foram realizadas em ICP-OES (Varian-720ES) (Adaptado, Hoenig et al., 1998). O limite de detecção para o Cr foi 0,1 µg g⁻¹. Os valores foram expressos em µg g⁻¹ de matéria seca com média e desvio-padrão.

2.4. Controle da qualidade

Toda a vidraria foi previamente limpa através de imersão em Extran (5%) durante 24 horas, seguida por mais 24 horas em HCl (5%) e novamente mais 24 horas em HNO₃ (5%). Após este período, três lavagens com água deionizada foram conduzidas. Reagentes de grau analítico foram utilizados em todos os procedimentos (Merck). Brancos foram determinados para todos os experimentos (em triplicata, para cada conjunto de 40 amostras). O coeficiente de variação máximo obtido entre as triplicatas foi sempre inferior a 10%. Para certificação da completa digestão das amostras vegetais foi realizado o teste de exatidão e precisão de metais em material certificado de folhas de maçã de referência 1515 fornecidos pelo Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (EUA).

2.5. Mensuração de trocas gasosas

A assimilação de carbono (*A*), transpiração (*E*), condutância estomática (*g_s*), e concentração de carbono interno (*C_i*) foram medidas entre 08:30 a 10:30 horas em uma folha jovem, completamente expandida e sem necrose de cada indivíduo de *E. crassipes* nos dias 0, 4 e 8 de exposição a 1 mM Cr₂O₃ (n=6). Um analisador de gás carbônico no infravermelho (IRGA) portátil, de circuito fechado (LI 6400, Li-Cor, USA) foi utilizado para as medições. As condições de medições de luz (PPFD), temperatura, CO₂ e umidade relativa na câmara foram de 2000 µmol m⁻²s⁻¹, 25 ± 2°C, 380 µmol.mol⁻¹ e 75%, respectivamente.

2.6. Poliaminas

Nos dias 0, 4 e 8 de exposição a 1 mM Cr₂O₃, amostras de folhas e raízes de *E. crassipes* foram coletadas (n=5) e transportadas em nitrogênio líquido até o biofreezer (-70°C) para posterior avaliação do conteúdo de poliaminas (PAs). A metodologia para a determinação de PAs livres foi

conduzida conforme descrito por Santa-Catarina *et al.* (2006). Amostras de 200 mg de massa fresca foram maceradas com 1,6 mL de ácido perclórico a 5% (v/v), e mantidas no gelo por 1 h, em seguida foram centrifugadas a 20.000 rpm por 20 min a 4 °C. O *pellet* será ressuscitado em 200 µL de ácido perclórico a 5%, centrifugado nas condições já citadas e os dois sobrenadantes, que contêm as PAs livres, serão misturados.

Em seguida as PAs livres foram dansiladas. Para tanto, 40 µL da amostra contendo PAs foram misturados com 100 µL de cloreto de dansil (5 mg.mL⁻¹ em acetona), 50 µL de solução saturada de carbonato de sódio (NaHCO₃) e 20 µL de 1,7- diaminoheptano (DAH), que foi utilizado como padrão interno. Após a mistura, as amostras foram incubadas no escuro por 50 min a 70 °C. O excesso de cloreto de dansil foi removido pela a adição de 25 µL de solução de prolina com posterior incubação por 30 min no escuro em temperatura ambiente. As PAs derivatizadas foram particionadas com 200 µL de tolueno, e a fase apolar (orgânica), que contém as PAs foi coletada, seca sob jato de nitrogênio, e ressuscitada em 175 µL de acetonitrila absoluta.

A identificação e quantificação das PAs foi feita utilizando HPLC com coluna C18 de fase reversa (Shimadzu Shim-pack CLC ODS). Acetonitrila 10% em água (pH 3,5 ajustado com HCl 1N) e acetonitrila absoluta foram utilizadas como solventes A e B, respectivamente. A mudança na proporção de acetonitrila absoluta (solvente B) em relação a acetonitrila 10% (solvente A) definirá o gradiente de corrida. O gradiente de acetonitrila absoluta (solvente B) foi programado para 65% durante os primeiros 10 min, de 65 a 100% entre 10 e 13 min e 100% até 22 min com fluxo de 1 mL.min⁻¹, a 40 °C. O detector de fluorescência foi ajustado para excitação de 340 nm e emissão em 510 nm. Foram injetados 20 µL da solução dansilada com cloreto de dansil. As áreas e tempos de retenção de cada PA foram avaliadas por comparação com padrões de PUT, SPD e SPM.

2.8. Análises estatísticas

Os resultados foram submetidos ao teste estatístico MANOVA ($p < 0,05$) para detecção de diferenças da concentração de Cr total, trocas gasosas, concentração de PAs para detectar diferenças entre rios, tratamentos e tempo de exposição a Cr.

3. RESULTADOS

3.1. Concentração de cromo

A concentração de Cr total sempre foi maior nas raízes do que nas folhas de *E. crassipes* (Tabela 1). Nas raízes de *E. crassipes* dos três rios, a concentração de Cr total aumentou significativamente no quarto e oitavo dia de exposição à 1 mM de Cr₂O₃. Somente nas folhas de *E. crassipes* do baixo RPS a concentração de Cr total foi significativamente maior no quarto e oitavo dia de exposição à 1 mM de Cr₂O₃ em comparação ao tratamento controle.

Tabela 1. Concentração de Cr total ($\mu\text{g/g}^{-1}$) em folhas e raízes de *Eichhornia crassipes* dos rios Paraíba do Sul, Muriaé e Pomba, nos dias 0, 4 e 8 de exposição a Cr³⁺. Letras maiúsculas = comparação entre os tratamentos (mesmo tempo e rio). Letras minúsculas a e b = comparação entre os tempos (mesmo tratamento e rio). xyz = comparam entre os rios (mesmo tempo e tratamento). (P<0,005). N=6.

Rios	Tempo	[Cr ₂ O ₃] mM	Folha	Raíz
Paraíba do Sul	0	0	4,96 ± 1,12 abx	21,53 ± 2,47 acx
		1	2,06 ± 0,24 Bax	18,30 ± 1,46 Bay
	4	0	12,06 ± 1,50 Aax	58,56 ± 2,34 Abx
		1	2,59 ± 0,18 Bax	12,69 ± 1,12 Bax
	8	0	15,10 ± 1,20 Aax	82,21 ± 3,70 Aaz
		1		
Muriaé	0	0	2,64 ± 0,75 Aaax	13,50 ± 1,31 Aacx
		1	1,40 ± 0,17 Aax	8,07 ± 1,35 Baz
	4	0	3,45 ± 0,31 Aax	63,41 ± 9,34 Abx
		1	1,88 ± 0,29 Aax	12,42 ± 1,03 Bax
	8	0	5,29 ± 0,34 Aaz	92,59 ± 11,30 Aay
		1		
Pomba	0	0	2,54 ± 0,47 Aax	16,54 ± 2,71 Aacx
		1	3,71 ± 0,22 Aabx	23,23 ± 2,50 Bax
	4	0	6,67 ± 1,32 Aax	60,72 ± 9,94 Abx
		1	4,76 ± 0,98 Aabx	17,25 ± 1,10 Bax
	8	0	7,94 ± 1,65 Aaz	129,50 ± 9,77 Aax
		1		

3.2. Trocas gasosas

Os valores dos parâmetros de trocas gasosas variaram em função da presença de 1 mM de Cr₂O₃, do tempo de exposição e dos locais de coletas dos indivíduos (Figura 1). Os valores de A em *E. crassipes* do baixo RPS e do rio Muriaé, respectivamente 31,5 e 23,5 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$, foram maiores no quarto dia de exposição à 1mM de Cr₂O₃ em comparação as plantas controle (28,5 e 18,6 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectivamente) (Figura 1A e B). O mesmo não foi observado em *E. crassipes* do rio Pomba, que no quarto dia de exposição à

1mM de Cr_2O_3 não apresentou diferença significativa entre controle e tratamento (Figura 2C).

Em *E. crassipes* do baixo RPS e do rio Muriaé foi verificada a redução dos valores de C_i (233,1 e 299,5 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$) no quarto dia de exposição à 1mM Cr_2O_3 em relação as plantas controle (261, 6 e 311,4 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectivamente), enquanto que em *E. crassipes* do rio Pomba não foi verificada diferença significativa entre os tratamentos (311,7 e 310, 8 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$) (Figura 1D, E e F). Com exceção de *E. crassipes* do rio Pomba, os valores de E no quarto dia de exposição à 1mM Cr_2O_3 foram mais elevados em relação as plantas expostas ao tratamento controle (Figura 1G, H e I). O valor de E em *E. crassipes* do baixo RPS foi maior (7,55 $\text{CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$) no quarto dia de exposição à 1mM Cr_2O_3 em comparação com os outros dois rios. Somente em *E. crassipes* do rio Pomba (Figura 1M) os valores de g_s foram reduzidos significativamente no quarto dia de exposição à 1mM Cr_2O_3 (2,45 $\text{CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$) em relação ao tratamento controle (2,97 $\text{CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$).

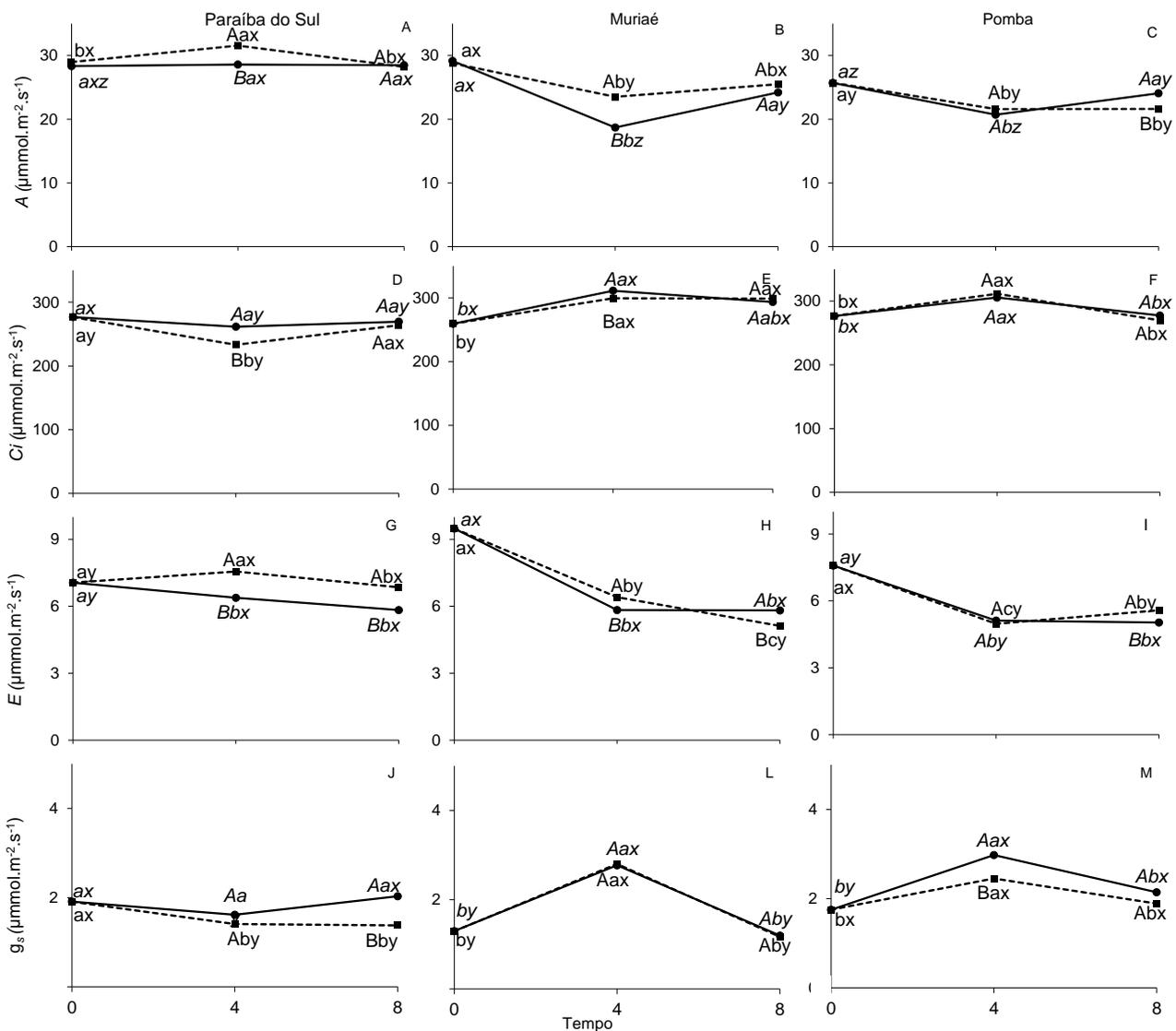


Figura 1. Média com desvio-padrão de A = Assimilação de CO₂ (A); g_s = condutância estomática (B), C_i = carbono interno (C) e E = transpiração (D) em *Eichhornia crassipes* dos rios Paraíba do Sul (RPS), Muriaé (MR) e Pomba (PR) nos dias 0, 4 e 8 de exposição 1 mM Cr³⁺. Linhas cheias = controle. Linhas pontilhadas = 1 mM Cr₂O₃. Letras em itálico = tratamento controle. Letras maiúsculas = comparação entre os tratamentos no mesmo tempo. Letras minúsculas = comparação do tempo para o mesmo tratamento. XYZ = comparação entre os rios, no mesmo tempo e tratamento. (p ≤ 0,05). N = 6.

3.3. Concentração de poliaminas

Aumento de PUT foi verificado principalmente no oitavo dia de exposição a Cr³⁺ a partir de 1 mM de Cr₂O₃. O teor de PUT (Figura 2A e B) aumentou no oitavo dia de exposição à 1 mM de Cr₂O₃ nas folhas de *E. crassipes* do baixo RPS e rio Muriaé, enquanto que nas plantas do rio Pomba (Figura 2C) não houve variação significativa ao longo do tempo. Os valores de SPD foram reduzidos no quarto dia de exposição ao Cr³⁺ nas raízes e nas folhas de *E. crassipes* do RPS e rio Muriaé, enquanto que somente nas raízes de *E. crassipes* do rio Pomba não houve redução significativa dos valores.

Os valores de SPM foram menores no quarto dia de exposição à Cr^{3+} , exceção feita as folhas e raízes de *E. crassipes* do rio Muriaé. Nas raízes, a menor concentração de SPM (Figura 2Q) foi verificada no baixo RPS e rio Pomba no quarto e oitavo de exposição à 1 mM de Cr_2O_3 .

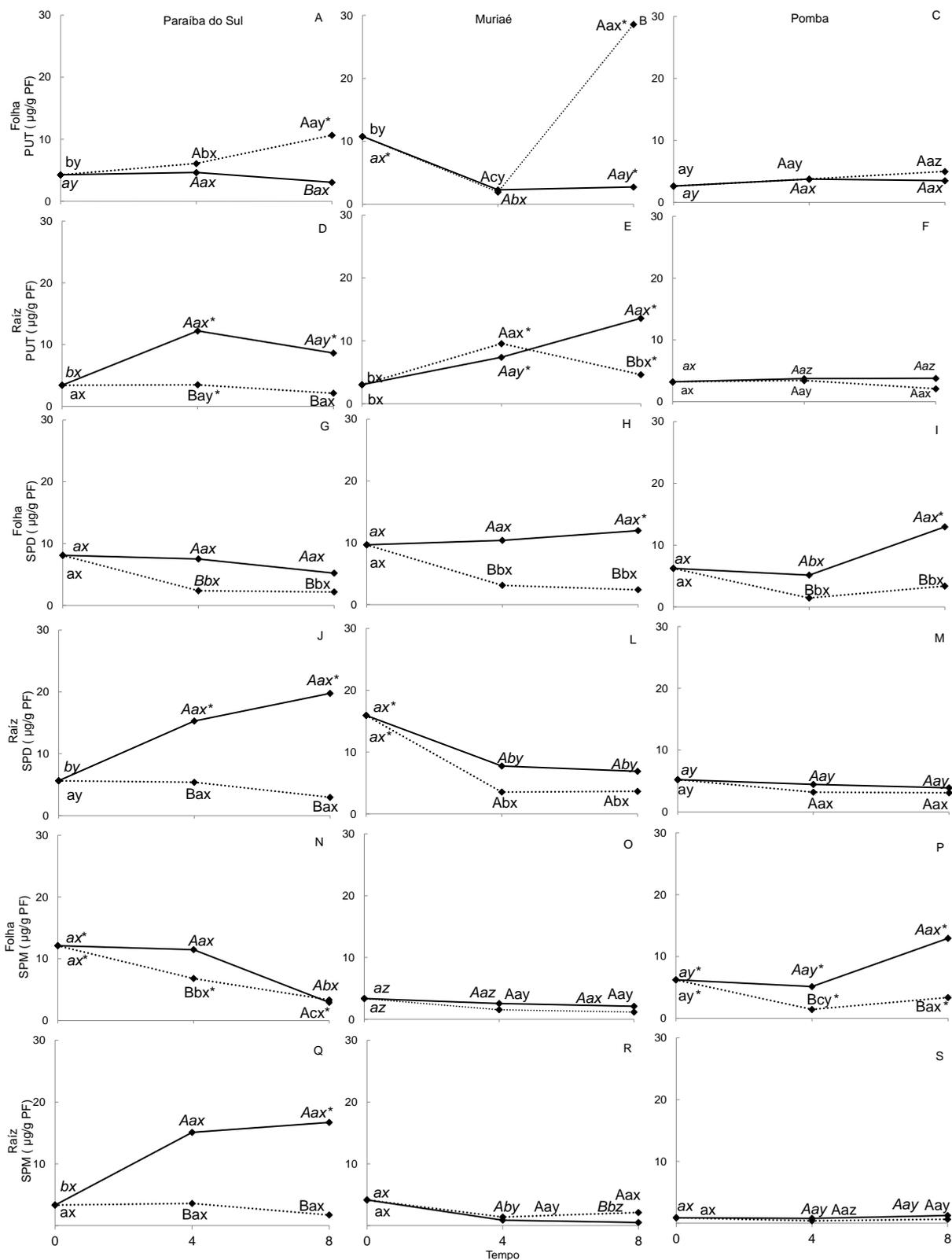


Figura 2. Concentração de poliaminas ($\mu\text{g g}^{-1}$ PF) nas folhas (A, B, C, G, H, I, N, O e P) e nas raízes (D, E, F, J, L, M, Q, R, S) de *E. crassipes* nos dias 0, 4 e 8 de exposição ao tratamento controle e 1mM de Cr_2O_3 . PUT – Putrescina, SPD – Espermidina, SPM – Espermina. Linhas cheias: tratamento controle e linhas pontilhadas: 1mM de Cr_2O_3 . Letras maiúsculas comparam entre os tratamentos, mesmo tempo e rio. Letras minúsculas comparam no tempo e no mesmo tratamento. XYZ comparam entre os rios, mesmo tempo e tratamento. * indica maior concentração de poliaminas entre folhas e raízes. (Manova). ($P < 0,005$). $N = 5$. FM = massa fresca. Letras em itálico representam o tratamento controle.

3.4. DISCUSSÃO

É possível que o aumento da assimilação de C no quarto dia de exposição ao Cr^{3+} tenha sido auxiliado por outros compostos metabólicos ou alterações enzimáticas ou ultraestruturais.

A assimilação de C em *E. crassipes* exposta a 1mM Cr_2O_3 foi afetada a depender do rio de coleta, com plantas dos rios Muriaé e baixo RPS apresentando maiores valores e plantas do rio Pomba não mostrando diferença entre controle e tratamento de exposição ao Cr^{3+} . A diferença na resposta de *E. crassipes* do rio Pomba pode estar relacionada a atividades de extração e beneficiamento de rochas ornamentais que ocorrem durante todo o ano nesta região e que geram resíduos abrasivos na forma de lama (Moreira et al., 2005; Vieira et al., 2006; Manhães & Holanda, 2008). Adicionalmente, nas raízes do do controle (quarto dia) de *E. crassipes* do rio Pomba foi verificada maior concentração de Cr total em comparação as raízes de *E. crassipes* dos demais rios. Possivelmente, o fato das plantas do rio Pomba estarem sujeitas constantemente aos resíduos da extração e beneficiamentos de rochas pode ter alterado suas respostas em relação as plantas do demais rios no momento da exposição ao Cr^{3+} . Imagens da MET (Apêndice 1 do Capítulo III) mostram que nas folhas de *E. crassipes* do rio Pomba há maior desorganização entre os tilacóides em relação as *E. crassipes* dos demais rios. Apesar dos rios Muriaé e baixo RPS também apresentarem histórico de poluição, possivelmente a poluição desses rios (mais relacionada a deposição de esgotos domésticos e industriais) cause menor dano fisiológico, ou talvez possam representar um “pré-tratamento” para rusticidade para estes indivíduos.

A exposição de plantas ao Cr^{3+} pode causar alterações na fixação de CO_2 , transporte de elétrons, fotofosforilação oxidativa e atividades de enzimáticas (Shanker et al., 2005). Cromo e outros metais presentes em esgotos domésticos e industriais causam aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (EROs). A intensificação desta produção degrada proteínas e pigmentos localizados nos tilacóides (Sharma & Dubey, 2005., Sharma et al., 2012., Jajić et al., 2015). Dhir et al. (2009) verificaram em *Salvinia natans* diminuição significativa da atividade da ribulose-bisfosfato carboxilase oxigenase (RUBISCO) induzida pela exposição a águas residuais ricas em Cr, e sugerem que este resultado possa ser explicado pela

substituição de Mg^{2+} no sítio ativo das subunidades RUBISCO por íons metálicos. Embora o Cr possa afetar a fotossíntese causando a redução da produtividade e até resultar na morte de plantas (Oliveira, 2012), o aumento dos valores de assimilação de C em *E. crassipes* também já foi constatado (Paiva et al., 2009). Em baixas concentrações de Cr^{3+} (2.0 a 8.0 $mg\ l^{-1}$) foram verificados aumento de carotenóides e clorofila *a* e *b* em *E. crassipes* coletadas no rio Paraná, sul do Brasil (González et al., 2014) sugerindo que o aumento dos pigmentos seja uma possível causa para o aumento da assimilação de C. Entretanto, Paiva et al. 2009 não verificaram o aumento dos pigmentos fotossintéticos como causa para a melhoria fotossintética após a exposição a Cr^{3+} .

A fotossíntese pode ser afetada por uma variedade de estresses bióticos e abióticos (Mittler, 2006) que culminam no aumento da produção de EROs. Estas EROs são degradadas a partir da atividade de moléculas antioxidantes (enzimáticas ou não) (González et al., 2015, Vitoria et al., 2001), conferindo resistência ao estresse oxidativo (Panda & Choudhury, 2005; Gill & Tuteja, 2010). Neste sentido, moléculas antioxidantes poderiam estar envolvidas nesta resposta.

O envolvimento das PAs, moléculas antioxidantes não enzimáticas, foi investigado no presente estudo e não foram verificadas variações de concentração destas moléculas no quarto dia de exposição a Cr, tempo em que houve aumento da assimilação de carbono. O contrário é relatado na literatura científica, onde o aumento do teor de PAs endógeno ocorre para reverter os efeitos prejudiciais e melhorar a tolerância das plantas a vários estresses ambientais (Navakoudis et al., 2003). A ação das PAs tem sido relacionada a proteção do aparelho fotossintético através da restauração da atividade fotoquímica (Hamdani et al., 2011), restauração do teor de clorofila, transporte de elétrons e transferência de energia entre FSII e FSI (Ioannidis & Kotzabasis, 2007). Em nosso estudo o aumento significativo do conteúdo de PUT ocorreu nas folhas no oitavo dia de exposição ao Cr^{3+} . Semelhante ao nosso resultado o conteúdo de PUT aumentou em *Helianthus annuus* após a exposição de 0,5 e 1 mM de Cd^{2+} somente após o sétimo dia de exposição ao metal (Groppa et al., 2008). Alguns dos genes envolvidos na biossíntese das PAs são encontrados no cloroplasto (Bortolotti et al., 2004), o que sugere a sua possível relação com

processos fotossintéticos. Em plantas de cevada cultivadas em solos com Cr^{3+} foi verificado aumento significativo de PUT nas folhas no sexto dia de exposição ao metal (Hauschild, 1993). Em estudo com *Hordeum vulgare* L. e *Brassica napus* L. foi verificado aumento de PUT após, respectivamente, 24 e 48 horas de exposição a $100 \mu\text{g/mL Cr}^{6+}$ com declínio de PUT posteriormente (Jacobsen et al., 1992). As PAs exógenas também atuam como agente protetor do aparelho fotossintético, principalmente, a SPM em baixas concentrações ($0.25 \mu\text{m}$) (Subhan & Murthy, 2001). Já foi verificado que baixas concentrações de SPM exógena ($<1.00\text{mM}$) podem melhorar ou restaurar a perda da atividade fotoquímica tanto *in vivo* como *in vitro* (Subhan & Murthy, 2001). Adicionalmente, o metabolismo das PAs mediante estresse por metais depende do composto ou ion metálico e das espécies das plantas (Groppa et al., 2003). Em nosso estudo, a razão $\text{PUT} / (\text{SPD} + \text{SPM})$ aumentou nas folhas de *E. crassipes* no quarto dia de exposição ao Cr^{3+} dos três rios. O aumento do conteúdo de PUT e redução do conteúdo de SPD e SPM também foi verificado em plantas de pepino submetidas a Cu^{2+} (Zang et al., 2010). O estresse por Ni também aumentou PUT e reduziu a concentração do conteúdo de SPD e SPM, reduzindo a razão $(\text{SPD} + \text{SPM}) / \text{PUT}$ nas folhas de *Hydrocharis dubia* (Zhao et al., 2008). O contrário, aumento de SPD e SPM e redução de PUT, é confirmado como uma propriedade de tolerância de plantas a estresse osmótico, estresse por baixa temperatura e também por exposição a metais (Bouchereau et al., 1999). No entanto, os mecanismos moleculares envolvidos na atuação das PAs ainda não são totalmente elucidados, principalmente porque as concentrações totais das PAs e as razões entre PAs individuais variam entre as espécies de plantas e dentro dos tecidos das plantas (Marina et al., 2008).

Diferente do observado para as PAs, alterações na ultraestrutura foliar (Apêndice 1 do Capítulo III) poderiam ter contribuído para o aumento do rendimento fotossintético de *E. crassipes* do RPS e rio Muriaé no quarto dia de exposição ao Cr^{3+} , respondendo positivamente nossa terceira pergunta. As alterações estruturais encontradas nos cloroplastos das folhas sugerem auxílio na proteção do aparato fotossintético, o que pode ser confirmado pela presença de grãos de amido, refletindo bom funcionamento fotossintético mesmo quando a planta esteve exposta a Cr^{3+} . Os indivíduos de *E. crassipes*

no quarto dia de exposição ao Cr^{3+} tiveram maior presença de plastoglóbulos quando comparados aos indivíduos controle, o que sugere resposta ao estresse oxidativo. Plastoglóbulos tem como função a biossíntese de corpos lipídicos e são subcompartimentos de armazenamento dos tilacóides, contendo substâncias como carotenóides, plastoquinonas e tocoferol (vitamina E) que atuam na proteção do aparato fotossintético contra os radicais livres (Austin et al. 2006). No presente estudo foi verificado também aumento do volume de estroma nas plantas expostas a Cr^{3+} , alteração comum em plantas submetidas a estresse (Bernal et al., 2006; Rangel et al., 2002). Em estudo com *E. crassipes*, indivíduos de rios de regiões mais industrializadas mostraram maior volume do estroma do que indivíduos de rio de região mais preservadas (Lage-Pinto et al., 2008). O mesmo foi observado em cloroplastos de plântulas de arroz expostos a clorato (Borges et al., 2004). Desorganização das membranas dos tilacóides nos cloroplastos foi observado em indivíduos no quarto dia de exposição à Cr^{3+} . Lage-Pinto et al. (2008) também observaram o afrouxamento e desorganização das membranas do tilacóides em plantas mais expostas a poluentes. Estes autores descrevem esta estratégia como uma possível forma de otimizar o fluxo de elétrons durante a fotossíntese. Nosso trabalho poderia fazer uso da mesma explicação, uma vez que observamos respostas similares na presença de Cr^{3+} . Entretanto o Cr^{3+} reduziu o número de células de parênquima paliçádico em *Pteris vittata* (Su et al., 2005). De acordo com Mangabeira et al., (2011), Cr^{3+} e Cr^{6+} alteram as estruturas de cloroplasto e núcleos e a ultra-estrutura da membrana plasmática em plantas. Deste modo, possivelmente a concentração do metal e o tempo de exposição modulam as respostas ultraestruturais e, portanto, cuidados devem ser feitos na generalização das respostas.

4. CONCLUSÕES

Componentes ecológicos, como a origem das plantas, são importantes na determinação das respostas a Cr em *E. crassipes* e devem ser considerados na avaliação de resultados envolvendo estresse biótico por exposição a metais. A diferença na resposta de *E. crassipes* do rio Pomba pode estar relacionada a atividades de extração e beneficiamento de rochas ornamentais que ocorrem durante todo o ano nesta região; adicionalmente, nas

raízes do controle de *E. crassipes* do rio Pomba foi verificada maior concentração de Cr total em comparação aos demais rios. Possivelmente, o fato das plantas do rio Pomba estarem sujeitas constantemente aos resíduos da extração e beneficiamentos de rochas pode ter alterado suas respostas em relação as plantas do demais rios no momento da exposição ao Cr³⁺. Os dados prévios deste grupo de pesquisa de aumento da assimilação de C em resposta a 1 mM de Cr em *E. crassipes* foram confirmados. Entretanto, diferente do esperado, as PAs não mostraram relação direta com esta melhoria fotossintética, sendo possível sugerir que alterações ultraestruturais foliares (Apêndice 1 do Capítulo III) (aumento do volume do estroma, afrouxamento dos tilacóides e presença de plastoglóbulos) podem ter conferido maior normalidade ao processo fotossintético, ou promovido a melhoria do fluxo de elétrons na presença de Cr.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Allué, J., Garcés, A. M., Bech, J., Barceló, J., & Poschenrieder, C. (2014). Fractionation of chromium in tannery sludge-amended soil and its availability to fenugreek plants. *Journal of Soils and Sediments*, 14(4): 697-702.
- Assunção, A. G. L., Martins, P. D. A. C., De Folter, S., Vooijs, R., Schat, H., & Aarts, M. G. M. (2001). Elevated expression of metal transporter genes in three accessions of the metal hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Plant, Cell & Environment*, 24(2): 217-226.
- Augustynowicz, J., Grosicki, M., Hanus-Fajerska, E., Lekka, M., Waloszek, A., & Kołoczek, H. (2010). Chromium (VI) bioremediation by aquatic macrophyte *Callitriche cophocarpa* Sendtn. *Chemosphere*, 79(11): 1077-1083.
- Austin, J. R., Frost, E., Vidi, P. A., Kessler, F., & Staehelin, L. A. (2006). Plastoglobules are lipoprotein subcompartments of the chloroplast that are permanently coupled to thylakoid membranes and contain biosynthetic enzymes. *The Plant Cell*, 18(7): 1693-1703.
- Barceló, J., Poschenrieder, C., Vázquez, M. D., & Gunsé, B. (1993). Beneficial and Toxic Effects of Chromium in Plants: Solution Culture, Pot and Field Studies. *Studies in Environmental Science*, 55: 147-171.

- Barnhart, J. (1997). Chromium chemistry and implications for environmental fate and toxicity. *Soil and Sediment Contamination*, 6(6): 561-568.
- Baron, K., & Stasolla, C. (2008). The role of polyamines during *in vivo* and *in vitro* development. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant* 44(5): 384-395.
- Bassi M., Grazia, Corradi M., Realini, M. (1990). Effect of Cr (VI) on two fresh water plants *Lemna minor* and *Pistia stratores*, 1. Morphological observation. *Cytobios*, 62: 27-38.
- Belay, A. A. (2010). Impacts of chromium from tannery effluent and evaluation of alternative treatment options. *Journal of Environmental Protection*, 1(01): 53.
- Borges, R., Miguel, E. C., Dias, J. M., da Cunha, M., Bressan-Smith, R. E., de Oliveira, J. G., & de Souza Filho, G. A. (2004). Ultrastructural, physiological and biochemical analyses of chlorate toxicity on rice seedlings. *Plant Science*, 166(4): 1057-1062.
- Bortolotti, C., Cordeiro, A., Alcazar, R., Borrell, A., Culiñez-Macià, F. A., Tiburcio, A. F., & Altabella, T. (2004). Localization of arginine decarboxylase in tobacco plants. *Physiologia Plantarum*, 120(1): 84-92.
- Bouchereau, A., Aziz, A., Larher, F., & Martin-Tanguy, J. (1999). Polyamines and environmental challenges: recent development. *Plant Science*, 140(2): 103-125.
- Chatterjee, J., Kumar, P., Sharma, P. N., & Tewari, R. K. (2015). Chromium toxicity induces oxidative stress in turnip. *Indian Journal of Plant Physiology*, 20(3): 220-226.
- Choudhury, S., & Panda, S. K. (2004). Induction of oxidative stress and ultrastructural changes in moss *Taxithelium nepalense* (Schwaegr.) Broth. under lead and arsenic phytotoxicity, 87: 342-347.
- Clancy, H. A., Sun, H., Passantino, L., Kluz, T., Muñoz, A., Zavadil, J., & Costa, M. (2012). Gene expression changes in human lung cells exposed to arsenic, chromium, nickel or vanadium indicate the first steps in cancer. *Metallomics*, 4(8): 784-793.
- Da Cunha, M., Gomes, V. M., Xavier-Filho, J., Attias, M., de Souza, W., & Miguens, F. C. (2000). The laticifer system of *Chamaesyce thymifolia*: a closed host environment for plant trypanosomatids. *Biocell: official journal*

of the *Sociedades Latinoamericanas de Microscopia Electronica*. 24(2): 123-132.

- Daud, M. K., Mei, L., Variath, M. T., Ali, S., Li, C., Rafiq, M. T., & Zhu, S. J. (2014). Chromium (VI) uptake and tolerance potential in cotton cultivars: effect on their root physiology, ultramorphology, and oxidative metabolism. *Biomed Research International*, 2014.
- Dechamps, C., Lefèbvre, C., Noret, N., & Meerts, P. (2007). Reaction norms of life history traits in response to zinc in *Thlaspi caerulescens* from metalliferous and nonmetalliferous sites. *New Phytologist*, 173(1): 191-198.
- Deng, H., Ye, Z. H., & Wong, M. H. (2004). Accumulation of lead, zinc, copper and cadmium by 12 wetland plant species thriving in metal-contaminated sites in China. *Environmental Pollution*, 132(1): 29-40.
- Dheeba, B., Sampathkumar, P., & Kannan, K. (2014). Growth, Chromium Accumulation Potential and Biochemical Changes of *Vigna radiata* and *Zea mays* Grown with Effective Microbes. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 84(2): 381-387.
- Dhir, B., Sharmila, P., & Saradhi, P. P. (2009). Potential of aquatic macrophytes for removing contaminants from the environment. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 39(9): 754-781.
- Dixit, V., Pandey, V., & Shyam, R. (2002). Chromium ions inactivate electron transport and enhance superoxide generation *in vivo* in pea (*Pisum sativum* L.) root mitochondria. *Plant, Cell & Environment*, 25(5): 687-693.
- Eastmond, D. A., MacGregor, J. T., & Slesinski, R. S. (2008). Trivalent chromium: assessing the genotoxic risk of an essential trace element and widely used human and animal nutritional supplement. *Critical Reviews in Toxicology*, 38(3): 173-190.
- El Bassam, N. (1978). Spurenelemente: Naehrstoffe und Gift zugleich. *Kali Briefe*. 14: 255-272.
- El Bassam, N. (1978). Spurenelemente: Naehrstoffe und Gift zugleich. *Kali Briefe*. 14: 255-272.
- Ferraz, A. I., Amorim, C., Tavares, T., & Teixeira, J. A. (2015). Chromium (III) biosorption onto spent grains residual from brewing industry: equilibrium,

- kinetics and column studies. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 12(5): 1591-1602.
- Frérot, H., Petit, C., Lefèbvre, C., Gruber, W., Collin, C., & Escarré, J. (2003). Zinc and cadmium accumulation in controlled crosses between metalicolous and nonmetalicolous populations of *Thlaspi caerulescens* (Brassicaceae). *New Phytologist*, 157(3): 643-648.
- Gao, Y., & Xia, J. (2011). Chromium contamination accident in China: viewing environment policy of China. *Environmental Science & Technology*, 45(20): 8605-8606.
- Ghosh, M., & Singh, S. P. (2005). A review on phytoremediation of heavy metals and utilization of it's by products. *Asian Journal of Energy Environmental*. 6(4): 18.
- Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). Polyamines and abiotic stress tolerance in plants. *Plant Signaling & Behavior*, 5(1), 26-33.
- González, C. I., Maine, M. A., Cazenave, J., Sanchez, G. C., & Benavides, M. P. (2015). Physiological and biochemical responses of *Eichhornia crassipes* exposed to Cr (III). *Environmental Science and Pollution Research*, 22(5): 3739-3747.
- Groppa, M. D., & Benavides, M. P. (2008). Polyamines and abiotic stress: recent advances. *Amino Acids*, 34(1): 35-45.
- Groppa, M. D., Benavides, M. P., & Tomaro, M. L. (2003). Polyamine metabolism in sunflower and wheat leaf discs under cadmium or copper stress. *Plant Science*, 164(2): 293-299.
- Groppa, M. D., Zawoznik, M. S., Tomaro, M. L., & Benavides, M. P. (2008). Inhibition of root growth and polyamine metabolism in sunflower (*Helianthus annuus*) seedlings under cadmium and copper stress. *Biological Trace Element Research*, 126(1-3): 246-256.
- Gupta, K., Dey, A., & Gupta, B. (2013). Plant polyamines in abiotic stress responses. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35(7): 2015-2036.
- Hamdani, S., Yaakoubi, H., & Carpentier, R. (2011). Polyamines interaction with thylakoid proteins during stress. *Journal of Photochemistry and Photobiology b: biology*, 104(1): 314-319.
- Harguinteguy, C. A., Cirelli, A. F., & Pignata, M. L. (2014). Heavy metal accumulation in leaves of aquatic plant *Stuckenia filiformis* and its

- relationship with sediment and water in the Suquía river (Argentina). *Microchemical Journal*, 114: 111-118.
- Hauschild, M. Z. (1993). Chromium content of leaves reveals chromium (III) stress of higher plants before sensitive biomarkers do. *Science of the Total Environment*, 134, 1345-1352.
- Hoagland, D. R., & Arnon, D. I. (1950). The water-culture method for growing plants without soil. *Circular. California Agricultural Experiment Station*, p. 347.
- Ioannidis, N. E., & Kotzabasis, K. (2007). Effects of polyamines on the functionality of photosynthetic membrane *in vivo* and *in vitro*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) Bioenergetics*, 1767(12): 1372-1382.
- Jacobsen, S., Hauschild, M. Z., & Rasmussen, U. (1992). Induction by chromium ions of chitinases and polyamines in barley (*Hordeum vulgare* L.) and rape (*Brassica napus* L. ssp. *oleifera*). *Plant Science*, 84(2): 119-128.
- Jajić, I., Sarna, T., Szewczyk, G., & Strzałka, K. (2015). Changes in production of reactive oxygen species in illuminated thylakoids isolated during development and senescence of barley. *Journal of Plant Physiology*, 184: 49-56.
- Jonak, C., Nakagami, H., & Hirt, H. (2004). Heavy metal stress. Activation of distinct mitogen-activated protein kinase pathways by copper and cadmium. *Plant Physiology*, 136(2): 3276-3283.
- Laschinsky, N., Kottwitz, K., Freund, B., Dresow, B., Fischer, R., & Nielsen, P. (2012). Bioavailability of chromium (III) supplements in rats and humans. *Biometals*, 25(5): 1051-1060.
- Liu, J. H., Kitashiba, H., Wang, J., Ban, Y., & Moriguchi, T. (2007). Polyamines and their ability to provide environmental stress tolerance to plants. *Plant Biotechnology*, 24(1): 117-126.
- Mabilleau, G., Gill, R., & Sabokbar, A. (2012). Cobalt and chromium ions affect human osteoclast and human osteoblast physiology *in vitro*. *Open Access Scientific Reports*, 1(3): 219.
- Mangabeira PA, Ferreira AS, de Almeida AA, Fernandes VF, Lucena E, Souza VL, dos Santos Júnior AJ, Oliveira AH, Grenier-Loustalot MF, Barbier F,

- Silva DC (2011) Compartmentalization and ultrastructural alterations induced by chromium in aquatic macrophytes. *Biometals* 24:1017–1026
- Manhães, J. P. V. T., & Holanda, J. N. F. D. (2008). Characterization and classification of granitic rock powder solid waste produced by ornamental rock industry. *Química Nova*, 31(6): 1301-1304.
- Marina, M., Maiale, S. J., Rossi, F. R., Romero, M. F., Rivas, E. I., Gárriz, A., Ruiz, O.A. & Pieckenstain, F. L. (2008). Apoplastic polyamine oxidation plays different roles in local responses of tobacco to infection by the necrotrophic fungus *Sclerotinia sclerotiorum* and the biotrophic bacterium *Pseudomonas viridiflava*. *Plant Physiology*, 147(4): 2164-2178.
- Matindi, C. N., Njogu, P. M., Kinyua, R., & Nemoto, Y. (2014, May). Analysis of heavy metal content in water hyacinth (*Eichhornia Crassipes*) from Lake Victoria, Kenya. In *Proceedings of Sustainable Research and Innovation Conference* (pp. 196-199).
- Miretzky, P., Saralegui, A., & Cirelli, A. F. (2006). Simultaneous heavy metal removal mechanism by dead macrophytes. *Chemosphere*, 62(2): 247-254.
- Mittler, R. (2006). Abiotic stress, the field environment and stress combination. *Trends in Plant Science*, 11(1): 15-19.
- Moreira, J. M. S., Manhães, J. P. V. T., & Holanda, J. N. F. (2005). Reaproveitamento de resíduo de rocha ornamental proveniente do Noroeste Fluminense em cerâmica vermelha. *Cerâmica*, 51(319): 180-186.
- Navakoudis, E., Lütz, C., Langebartels, C., Lütz-Meindl, U., & Kotzabasis, K. (2003). Ozone impact on the photosynthetic apparatus and the protective role of polyamines. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1621(2): 160-169.
- Oliveira, H. (2012). Chromium as an environmental pollutant: insights on induced plant toxicity. *Journal of Botany*, 2012.
- Paiva, L. B., de Oliveira, J. G., Azevedo, R. A., Ribeiro, D. R., da Silva, M. G., & Vitória, A. P. (2009). Ecophysiological responses of water hyacinth exposed to Cr 3+ and Cr 6+. *Environmental and Experimental Botany*, 65(2): 403-409.
- Panda, S. K. E Choudhury, S. (2005). Chromium stress in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17(1): 95-102.

- Ranieri, E., & Gikas, P. (2014). Effects of plants for reduction and removal of hexavalent chromium from a contaminated soil. *Water, Air, & Soil pollution*, 225(6): 1-9.
- Rehman, A., Zahoor, A., Muneer, B., & Hasnain, S. (2008). Chromium tolerance and reduction potential of a *Bacillus* sp. ev3 isolated from metal contaminated wastewater. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 81(1): 25-29.
- Santa-Catarina, C., Silveira, V., Balbuena, T. S., Viana, A. M., Estelita, M. E. M., Handro, W., & Floh, E. I. (2006). IAA, ABA, polyamines and free amino acids associated with zygotic embryo development of *Ocotea catharinensis*. *Plant Growth Regulation*, 49(2-3), 237-247.
- Santos, A. D., Oliveira, L. C. D., Botero, W. G., Mendonça, A. G. R., Santos, F. A. D., Rocha, J. C., & Oliveira, A. S. D. (2009). Distribution and bioavailability of chromium in contaminated soils by tannery residues. *Química Nova*, 32(7): 1693-1697
- Shanker, A. K., Cervantes, C., Loza-Tavera, H., & Avudainayagam, S. (2005). Chromium toxicity in plants. *Environment International*, 31(5): 739-753.
- Sharma, P., & Dubey, R. S. (2005). Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. *Plant Growth Regulation*, 46(3): 209-221.
- Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S., & Pessarakli, M. (2012). Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of Botany*, 2012.
- Sharma, S. S., & Dietz, K. J. (2006). The significance of amino acids and amino acid-derived molecules in plant responses and adaptation to heavy metal stress. *Journal of Experimental Botany*, 57(4): 711-726.
- Singh, H. P., Mahajan, P., Kaur, S., Batish, D. R., & Kohli, R. K. (2013). Chromium toxicity and tolerance in plants. *Environmental Chemistry Letters*, 11(3): 229-254.
- Sreeram, K. J., Aravindhan, R., Rao, J. R., & NAIR, B. U. (2004). Mixed metal complexes of zirconium: A step towards reducing usage of chromium in tanning. *The Journal of the American Leather Chemists Association*, 99(3): 110-118.

- Subhan, D., & Murthy, S. D. S. (2001). Effect of polyamines on chlorophyll and protein contents, photochemical activity, and energy transfer in detached wheat leaves during dark incubation. *Biologia Plantarum*, 44(4): 529-533.
- Swarnalatha, K., & Radhakrishnan, B. (2015). Studies on removal of Zinc and Chromium from aqueous solutions using water hyacinth. *Pollution*, 1(2): 193-202.
- Sytar, O., Kumar, A., Latowski, D., Kuczynska, P., Strzałka, K., & Prasad, M. N. V. (2013). Heavy metal-induced oxidative damage, defense reactions, and detoxification mechanisms in plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35(4): 985-999.
- Su Y, Han F.X., Sridhar B.M., Monts D.L. (2005). Phytotoxicity and phytoaccumulation of trivalent and hexavalent chromium in brake fern. *Environ Toxicol Chem* 24:2019–2026
- Tulasi, G., & Rao, K. J. (2014). Essentiality of chromium for human health and dietary nutrition. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 2(1): 107-108.
- Vickers, C. E., Gershenzon, J., Lerdau, M. T., & Loreto, F. (2009). A unified mechanism of action for volatile isoprenoids in plant abiotic stress. *Nature Chemical Biology*, 5(5): 283-291.
- Vieira, C. M. F., Henriques, D. N., Peiter, C. C., Carvalho, E. A., Monteiro, S. N., Ipê, A., & da Cidade Universitária, I. (2006). Utilização de gnaïsse fino em massa cerâmica para telhas. *Revista Matéria*, 11(3): 211-216.
- Vincent, J. B. (2010). Chromium: celebrating 50 years as an essential element? *Dalton transactions*, 39(16): 3787-3794.
- Vitória, A.P.; Lea, P. J.; Azevedo, R.A. (2001). Antioxidant enzymes responses to cadmium in radish tissues. *Phytochemistry*. 57 (7): 701-710.
- Vutukuru, S. S. (2005). Acute effects of hexavalent chromium on survival, oxygen consumption, hematological parameters and some biochemical profiles of the Indian major carp, *Labeo rohita*. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2(3): 456-462.
- Zayed, A. M., & Terry, N. (2003). Chromium in the environment: factors affecting biological remediation. *Plant and Soil*, 249(1): 139-156.

- Zayed, A., Lytle, C. M., Qian, J. H., & Terry, N. (1998). Chromium accumulation, translocation and chemical speciation in vegetable crops. *Planta*, 206(2): 293-299.
- Zeng, F., Wu, X., Qiu, B., Wu, F., Jiang, L., & Zhang, G. (2014). Physiological and proteomic alterations in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings under hexavalent chromium stress. *Planta*, 240(2): 291-308.
- Zeng, G., Chen, M., & Zeng, Z. (2013). Shale gas: surface water also at risk. *Nature*, 499(7457): 154-154.
- Zhang, Z. K., Liu, S. Q., Hao, S. Q., & Liu, S. H. (2010). Grafting increases the copper tolerance of *Cucumber* seedlings by improvement of polyamine contents and enhancement of antioxidant enzymes activity. *Agricultural Sciences in China*, 9(7): 985-994.
- Zhao, J., Shi, G., & Yuan, Q. (2008). Polyamines content and physiological and biochemical responses to ladder concentration of nickel stress in *Hydrocharis dubia* (Bl.) Backer leaves. *Biometals*, 21(6): 665-674.

CAPÍTULO IV

1. DISCUSSÃO GERAL

O presente estudo corroborou a plasticidade e elevada capacidade de *E. crassipes* para hiperacumulação de metais. A plasticidade de *E. crassipes* para viver em ambientes inóspitos se deve, entre outros aspectos, a algumas adaptações fisiológicas e morfológicas do aparelho fotossintético (Paiva et al., 2009, Hadad et al., 2011, González et al., 2015). O rendimento fotossintético de *E. crassipes*, avaliados pela razão Fv/Fm, não foi afetado, apesar das raízes de *E. crassipes* terem refletido as variações sazonais da concentração dos metais avaliados, e dos três rios (RPS e rios Muriaé e Pomba) terem recebido diferentes concentrações de poluentes (esgoto doméstico, agrícolas, industriais, e de pedreiras). No experimento com a concentração de 1mM de Cr₂O₃ (152 mg/L) a assimilação de C de *E. crassipes* não foi negativamente influenciada mesmo no oitavo de exposição ao metal. De acordo com o CONAMA para a potabilidade da água, o limite de concentração de Cr é de 0,05 mg/L. Concentrações acima dos limites especificados podem ser tóxicos (potabilidade da água, Portaria do ministério da saúde 2914/2011). Se *E. crassipes* foi capaz de tolerar a concentração de 152 mg/L de Cr³⁺ por 8 dias e ainda apresentar aumento da assimilação de C durante este período, nós sugerimos que essa macrófita aquática possa ser utilizada para fitorremediação de ambientes contaminados por Cr. Esperava-se que *E. crassipes* do RPS fosse mais tolerante ao Cr³⁺ devido a região de coleta (baixo RPS) receber afluentes com histórico de contaminação, e ter o seu entorno mais populoso em comparação ao entorno dos rios Muriaé (em Cardoso Moreira) e o rio Pomba (em Santo Antônio de Pádua). No entanto, no experimento com Cr³⁺ foi verificado que a capacidade de assimilar carbono e reter Cr nas raízes de *E. crassipes* do RPS e rio Muriaé foi semelhante. Por outro lado, as plantas do rio Pomba apresentaram desempenho inferior em termos de assimilação de C e retenção de Cr nas raízes. Dessa forma, os indivíduos de *E. crassipes* do RPS e do rio Muriaé foram mais aptos a reterem Cr sem prejuízo das funções fotossintéticas, sendo mais adequadas para trabalho de fitorremediação de Cr no período de estudo.

No Brasil, algumas áreas contaminadas com Cr incluem aquíferos como o Adamantina no município de Urânia em São Paulo (Bertolo et al., 2009), rios (Piracicaba, Doce, Paraibuna) da região sudeste do estado de Minas Gerais, áreas de solos no estado de Mato grosso (Fachin et al., 2006), e solos agrícolas no cerrado goiano (Lemke-de-Castro et al., 2010). A presença de Cr em águas subterrâneas está associada principalmente à contaminação de origem antrópica, ligada à atividades como indústrias de metal e de tratamento de madeira, mineração e processos de beneficiamento de metal, indústrias de manufaturas de pigmentos, de filmes fotográficos e de inibidores de corrosão, indústria de curtimento de couros dentre outras (Jordão et al., 1997; Bertolo et al., 2009). Na agricultura, de acordo com Lemke-de-Castro et al. (2010), o Cr³⁺ por vezes é utilizado em fertilizantes e essa prática leva a contaminação do solo. Sabe-se que os metais do solo podem ser lixiviados até o corpo hídrico mais próximo e dessa forma a contaminação por Cr pode ser estendida para a biota aquática e fazer parte da cadeia alimentar nos ecossistemas aquáticos.

Embora as macrófitas aquáticas beneficiem os ecossistemas aquáticos em alguns aspectos como no favorecimento da biodiversidade, fornecimento de abrigo para biota aquática, absorção de poluentes, ciclagem de nutrientes (Esteves, 1998; Harguinteguy et al., 2014; Vardanyan & Ingole, 2006; Dhote & Dixit, 2009), a proliferação inadequada de macrófitas aquáticas podem causar danos aos múltiplos usos dos recursos hídricos como a navegação, produção de energia pelas hidroelétricas, recreação, dentre outros. No entanto, o conhecimento da fisiologia, anatomia, ciclo de vida das macrófitas aquáticas e as adaptações para tolerância a estresses ambientais contribuem para a melhor adequação dos trabalhos de fitorremediação, uma vez que, essa técnica causa menos perturbação dos ecossistemas do que a remediação microbiana ou físico-química (Doran, 2009).

Até onde é de nosso conhecimento, este é o primeiro estudo sobre avaliações da capacidade hiperacumuladora de metais e tolerância ao Cr³⁺ em *E. crassipes* dos rios Muriaé no município de Cardoso Moreira e Pomba no município de Santo Antônio de Pádua. Estudos que relacionem a capacidade de retenção de metais relacionados a atividades socio-econômicas dessas regiões podem favorecer possíveis trabalhos de fitorremediação para essas regiões que dependem desses rios para o abastecimento público.

Adicionalmente, a fitorremediação realizada de forma adequada pode auxiliar na purificação da água dos reservatórios antes que a mesma seja fornecida à população.

Um estudo para avaliar a capacidade de *E. crassipes* em absorver o Cr^{3+} adicionado a água de diferentes rios acondicionadas em unidades experimentais, e a avaliação do efeito sinérgico do Cr^{3+} com os poluentes de cada rio pode ampliar o conhecimento da fitorremediação por *E. crassipes* coletadas em diferentes regiões.

2. CONCLUSÕES

Aumento da assimilação de C foi observada para *Eichhornia crassipes* na estação chuvosa quando em comparação com a seca. Entretanto, a etapa da fotossíntese referente ao rendimento fotoquímico (avaliada pelos valores de F_v/F_m) não foi afetada pela sazonalidade. Em complementação a estes dados, *Eichhornia crassipes* não esteve sob estresse fotossintético nas condições ambientais estudadas durante as avaliações no campo, mesmo tendo sido observadas variações sazonais e espaciais na concentração de metais no MPS e nas raízes e parte áreas de *E. crassipes* no RPS e rios Muriaé e Pomba.

A origem das plantas influencia na resposta de exposição a Cr. Assim, este componente ecológico deve ser considerado na avaliação de resultados envolvendo estresse biótico por exposição a metais. Diferente do esperado, as PAs não mostraram relação direta com a melhoria fotossintética na presença de Cr^{3+} , sendo possível sugerir que tal resposta fisiológica possa ter sido sustentada por alterações ultraestruturais foliares, tais como aumento do volume do estroma, afrouxamento dos tilacoides e presença de plastoglobulos.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bertolo, R. A., Marcolan, L. N. O., & Bourotte, C. L. M. (2009). Relações água-rocha e a hidrogeoquímica do cromo na água subterrânea de poços de monitoramento multiníveis de Urânia, SP, Brasil. *Geologia USP. Série Científica*, 9(2), 47-62.
- Cameselle, C., Chirakkara, R. A., & Reddy, K. R. (2013). Electrokinetic-enhanced phytoremediation of soils: status and opportunities. *Chemosphere*, 93(4), 626-636.
- CONAMA. RESOLUÇÃO CONAMA Nº 20, de 18 de junho de 1986 <http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res86/res2086.html>. Acessado no dia 02 de março de 2016.
- Dhote, S., & Dixit, S. (2009). Water quality improvement through macrophytes— a review. *Environmental Monitoring and Assessment*, 152(1-4): 149-153.
- Doran, P. M. (2009). Application of plant tissue cultures in phytoremediation research: incentives and limitations. *Biotechnology and bioengineering*, 103(1), 60-76.
- Esteves, F. A. 1998. *Fundamentos de limnologia*. 2º Ed. Rio de Janeiro: Interciência, 602p.
- Fachin, S. J. D. S., Huber, F., Shiraiwa, S., Borges, W. R., & Migliorini, R. B. (2006). Aplicação de métodos geofísicos para identificar áreas contaminadas por resíduos de um curtume. *Revista Brasileira de Geofísica*, 24(1), 129-138.
- Hadad, H. R., Maine, M. A., Mufarrege, M. M., Del Sastre, M. V., & Di Luca, G. A. (2011). Bioaccumulation kinetics and toxic effects of Cr, Ni and Zn on *Eichhornia crassipes*. *Journal of hazardous materials*, 190(1), 1016-1022.
- Harguinteguy, C. A., Cofré, M. N., Fernández-Cirelli, A., & Pignata, M. L. (2016). The macrophytes *Potamogeton pusillus* L. and *Myriophyllum aquaticum* (Vell.) Verdc. as potential bioindicators of a river contaminated by heavy metals. *Microchemical Journal*, 124: 228-234.
- Jordão, C. P., Pereira, J. L., & Jham, G. N. (1997). Chromium contamination in sediment, vegetation and fish caused by tanneries in the State of Minas Gerais, Brazil. *Science of the Total Environment*, 207(1), 1-11.

- Lemke-de-Castro, M. L., Borges, J. D., de Oliveira, L. F. C., Rodrigues, C., de Figueiredo, C. C., & de Castro, W. J. (2010). Sorção de cromo em solos do cerrado goiano, Brasil. *Revista Ambiente e Água*, 5(2).
- Vardanyan, L. G., & Ingole, B. S. (2006). Studies on heavy metal accumulation in aquatic macrophytes from Sevan (Armenia) and Carambolim (India) lake systems. *Environment International*, 32(2): 208-218.

**Anexo do Capítulo II: Fotossíntese e metais em *Eichhornia crassipes*:
Variação sazonal e espacial em rios tropicais**

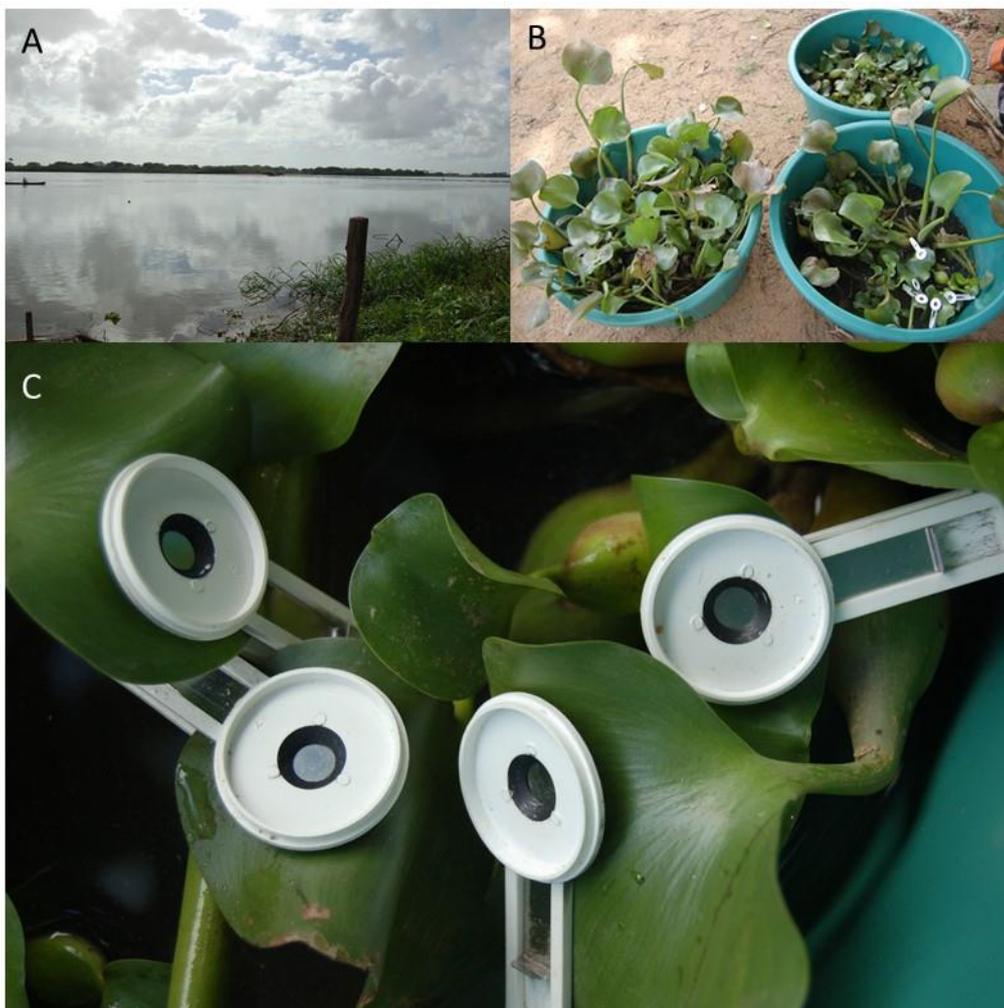


Figura 1. Foto do rio Paraíba do Sul (A) e das folhas de *Eichhornia crassipes* com as pinças para posterior tomada de dados dos parâmetros da Fluorescência da clorofila *a* (B e C).



Figura 2. Foto do rio Muriaé (A), das medidas dos parâmetros de trocas gasosas nas folhas de *Eichhornia crassipes* (B) e das folhas de *Eichhornia crassipes* com as pinças para posterior tomada de dados dos parâmetros da Fluorescência da clorofila *a* (C).

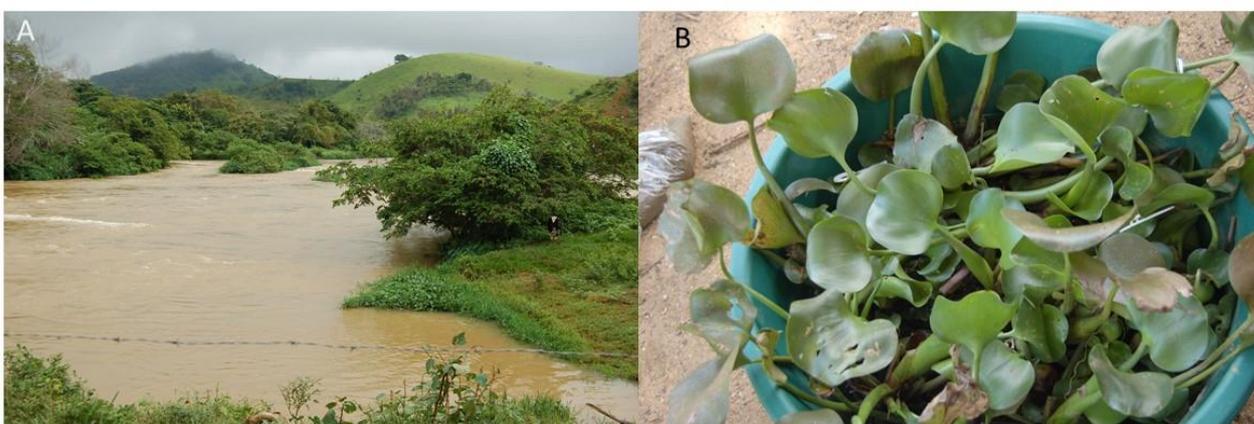


Figura 3. Foto do rio Pomba com *Eichhornia crassipes* em sua margem direita (A), e de *Eichhornia crassipes* coletadas para posterior triagem (B).

Anexo do Capítulo III: Aumento da assimilação de C em *Eichornia crassipes* exposta a Cr^{3+} : influência dos rios de origem e poliaminas para a resposta ecofisiológica



Figura 1. Fotos do experimento com Cr^{3+} .

**Apêndice do Capítulo II: Fotossíntese e metais em *Eichornia crassipes*:
Variação sazonal e espacial em rios tropicais**

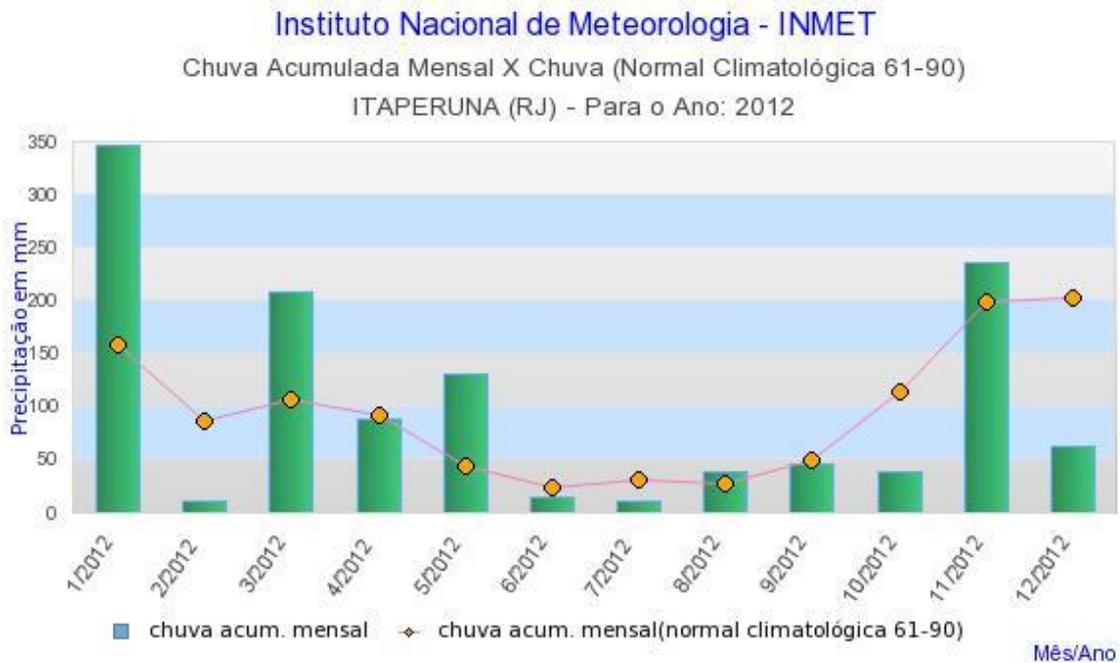


Figura 1. Dados de pluviosidade do ano de 2012 da estação de captação de dados em Itaperuna que é próxima ao rio Paraíba do Sul em campos dos Goytacazes e Muriaé em Cardoso Moreira.

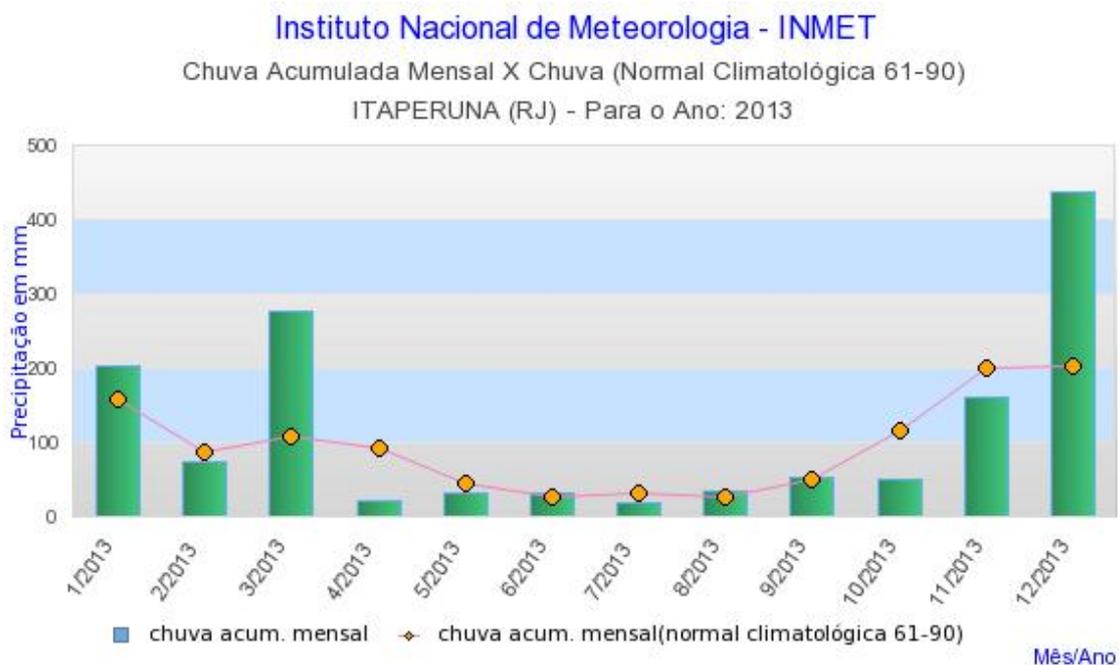


Figura 2. Dados de pluviosidade do ano de 2013 da estação de captação de dados em Itaperuna que é próxima ao rio Paraíba do Sul em Campos dos Goytacazes e Muriaé em Cardoso Moreira.

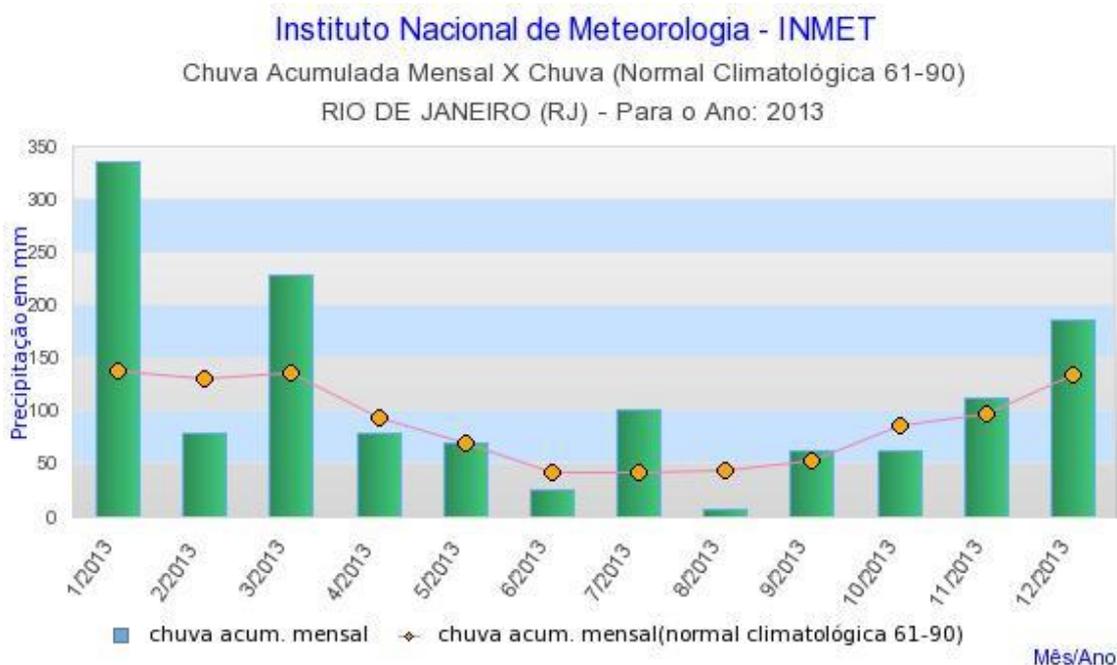


Figura 3. Dados de pluviosidade do ano de 2012 da estação de captação de dados no Rio de Janeiro que abrange os três municípios onde foram realizados os estudos

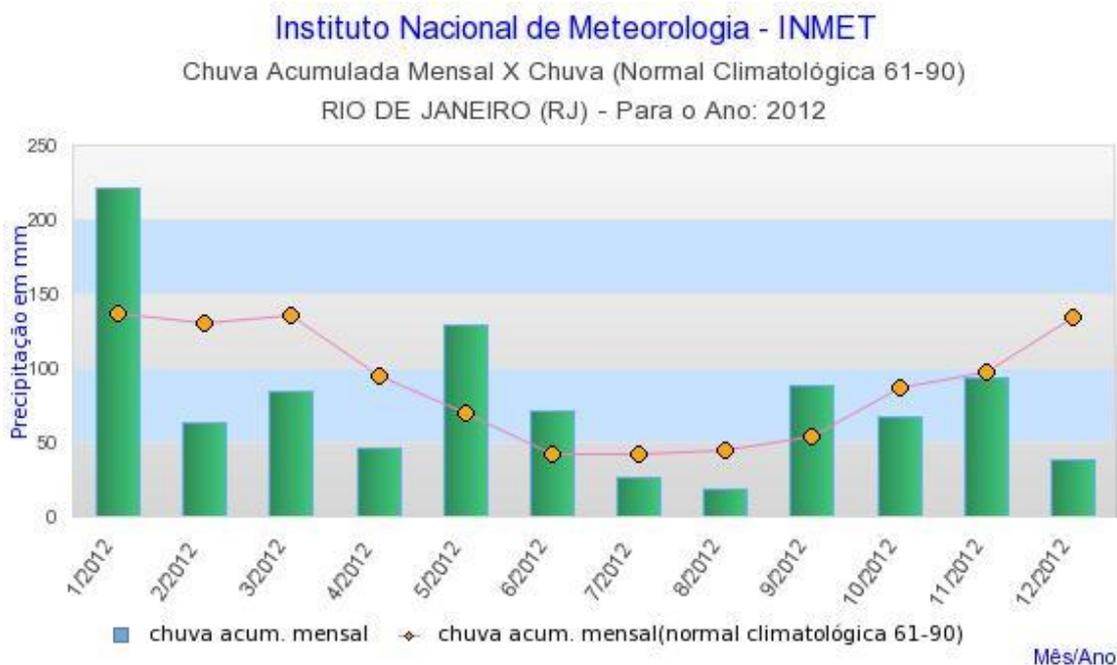


Figura 4. Dados de pluviosidade do ano de 2012 da estação de captação de dados no Rio de Janeiro que abrange os três municípios onde foram realizados os estudos

Apêndice do Capítulo III: Aumento da assimilação de C em *Eichornia crassipes* exposta a Cr³⁺: influência dos rios de origem e poliaminas para a resposta ecofisiológica

Microscopia de transmissão das folhas

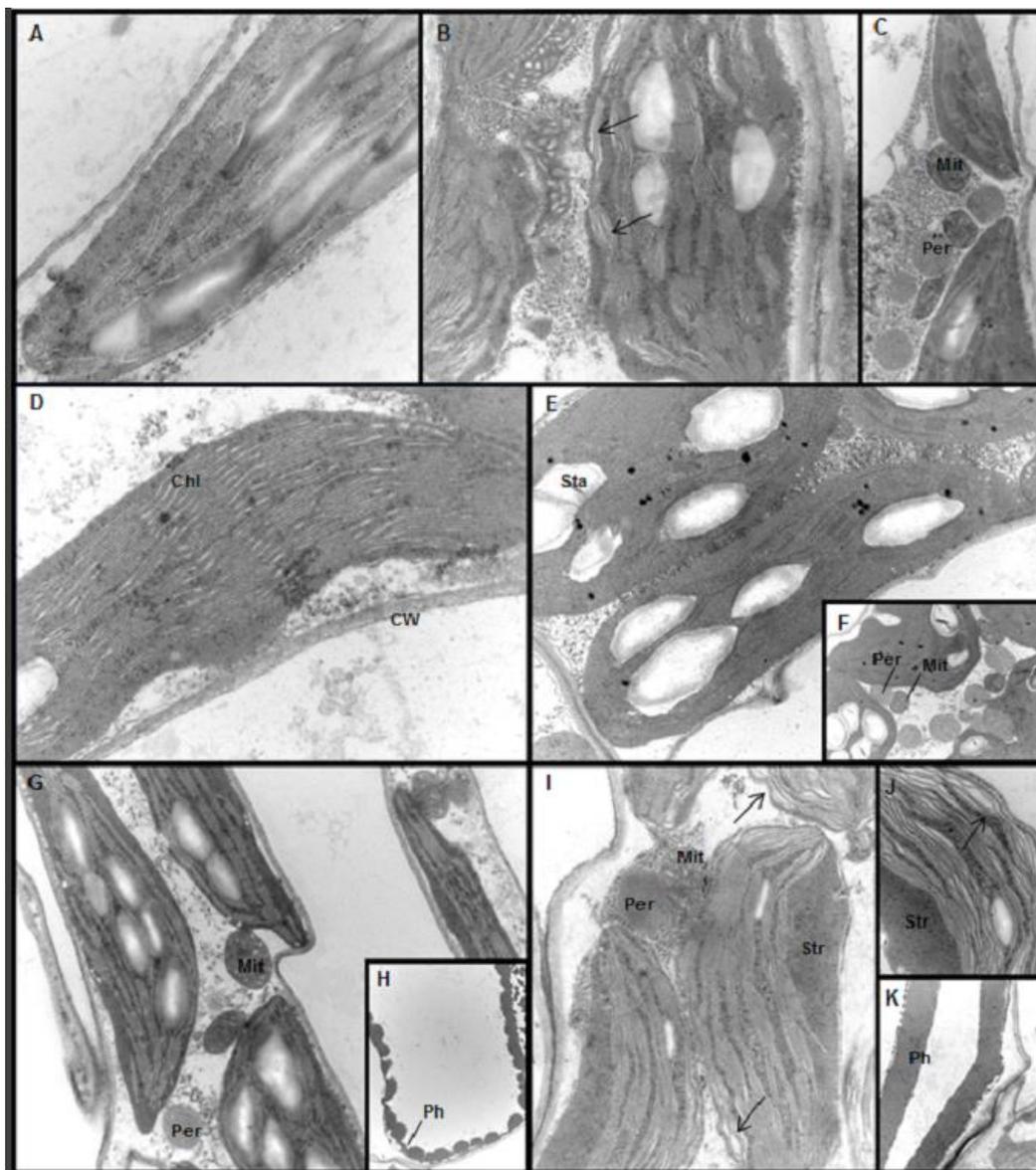


Figura 1. Microscopia Eletrônica de Transmissão de limbo foliar de *E. crassipes* oriundos dos rios Paraíba do sul indivíduos controle (A) e indivíduos expostos a 1 mM de Cr³⁺ por 4 dias (B e C), rio Muriaé indivíduos controle (D) e indivíduos expostos 1 mM de Cr³⁺ por 4 dias (E e F) e rio Pomba controle (G e H) e indivíduos expostos 1 mM de Cr³⁺ por 4 dias (I, J e K). Foi evidenciado mitocôndria (Mit), cloroplasto (Chl), estroma (Str) peroxissomos (Per), parede celular (CW) grãos de amido (Sta), compostos fenólicos (Ph) e desorganização dos tilacóides (setas). **Fonte:** Andresa Lana Thomé Bizzo. **Avaliações ecofisiológicas e estruturais em *Eichornia crassipes* (Mart.) Solms submetida a Cr³⁺. Dissertação de mestrado 67 p. 2015**