

Artigo científico

Ana Carolina de Oliveira Duarte¹, Marinês Ferreira Pires Lira², Cyinthia de Oliveira³, Elícia Trindade Alves⁴, Evaristo Mauro de Castro⁵

^{1,2,3,4,5} Universidade Federal de Lavras – Laboratório de Anatomia Vegetal

Anatomia e trocas gasosas de *Heteranthera reniformis* Ruiz & Pav. em resposta ao Cromo

Anatomy and gas exchange of Heteranthera reniformis Ruiz & Pav. in response to Chrome

Resumo. Macrófitas são capazes de absorver elementos, através da fitorremediação, atenuando poluentes no ambiente de forma eficiente e barata. Aqui, objetivou-se avaliar a tolerância de *Heteranthera reniformis* ao cromo, através de características anatômicas e fisiológicas. A fonte de cromo utilizada durante 15 dias foi de: 0; 20; 40; 80; 160 e 320 mg L⁻¹. Foram avaliadas trocas gasosas com o equipamento IRGA. As amostras de raiz e folha desidratadas, infiltradas e incluídas em hidroxietil-metacrilato para confecção de lâminas. As secções paradérmicas foram obtidas a mão livre, clarificadas e coradas para captura das imagens. Os dados histométricos foram analisados com auxílio do software Sisvar. Na raiz, o córtex apresentou redução, a epiderme, endoderme e exoderme apresentaram espessamento. A epiderme adaxial da folha e parênquima clorofiliano reduziram e parênquima esponjoso foi espessado. Houve redução da densidade estomática, diâmetros polares e equatoriais. Não foi verificado efeito dos tratamentos sob as variáveis de trocas gasosas, demonstrando que as respostas de *H.reniformis* não foram influenciadas negativamente pelo metal. As modificações relacionadas às barreiras apoplásticas podem ser consideradas um mecanismo favorável à tolerância podendo contribuir para a manutenção das características de trocas gasosas e estomáticas na presença de cromo. **Palavras-chave**: Anatomia foliar, barreiras apoplásticas, fotossíntese, metal pesado.

Abstract. Macrophytes are able to absorb elements, through phytoremediation, attenuating pollutants in the environment efficiently and cheaply. Here, the objective was to evaluate the tolerance of *Heteranthera reniformis* to chromium, through anatomical and physiological characteristics. The source of chromium used for 15 days was: 0; 20; 40; 80; 160 and 320 mg L-1. Gas exchange with IRGA equipment was evaluated. The root and leaf samples dehydrated, infiltrated and included in hydroxyethyl methacrylate for the preparation of slides. Parathermic sections were obtained by free hand, clarified and stained to capture the images. Histological data were analyzed using the Sisvar software. At the root, the cortex presented reduction, the epidermis, endoderm and exoderm presented thickening. The adaxial epidermis of the leaf and chlorophyllous parenchyma reduced and the spongy parenchyma was thickened. There was reduction of the stomatal density, polar and equatorial diameters. No effect of the treatments under the gas exchange variables was observed, demonstrating that *H.reniformis* responses were not negatively influenced by the metal. The modifications related to the apoplastic barriers can be considered a mechanism favorable to the tolerance and can contribute to the maintenance of the characteristics of gas and stomatal exchanges in the presence of chromium. **Key words**: Leaf anatomy, apoplectic barriers, photosynthesis, heavy metal.

Introdução

A poluição dos ecossistemas aquáticos é um problema que desperta preocupação e interesse mundial. O meio ambiente é exposto a inúmeros poluentes incluindo metais pesados, tóxicos cuja à persistência por períodos de tempo longos após a sua inserção, a nãobiodegradadibilidade pode afetar seres humanos, animais, plantas e microorganismos (KAMRAN *et al.*, 2014). Estima-se que mais de 3 milhões de toneladas de resíduos potencialmente perigosos são gerados por ano no Brasil, sendo que grande parte não recebem o devido tratamento (FURTADO, 2003). Assim, esforços têm sido feitos nas últimas décadas para reduzir as fontes de poluição e remediar o solo e os recursos hídricos. Tecnologias baratas e eficazes são



necessárias para proteger os recursos naturais e seres vivos, por isso estudos devem ser feitos para identificação de espécies e seus mecanismos de absorção de metais pesados.

Metais pesados são constituintes químicos inorgânicos com a massa atômica a partir de 20 e a densidade superior a 5 g cm⁻³. São citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos, porém incluem elementos essenciais aos seres vivos quando em concentrações apropriadas (WUANA & OKIEIMEN, 2011). O cromo (Cr) é o sétimo metal mais abundante da crosta terrestre, sendo encontrado em duas formas estáveis: cromo (III) e cromo (VI) ou trivalente e hexavalente, sendo que a forma III é 100 vezes menos tóxica e 1000 vezes menos mutagênica que a forma VI. Cr (VI) é conhecido por ser o mais tóxico em virtude de sua capacidade de atravessar membranas, via transportadores de fosfato e sulfato, penetrar no citoplasma e reagir no meio intracelular (SINGH *et al.*, 2013).

O cromo é usado em grande escala na atividade indústrias, incluindo a metalúrgica, produção de tintas e pigmentos, curtir couro, preservação da madeira, produção de papel, cromagem. O Brasil é um dos cinco maiores produtores de couro o mundo e somente neste segmento são liberados mais de 14 milhões de m³ de águas residuais de curtumes por ano. Neste sentido, há no Brasil, a resolução nº 397 do CONAMA (2011), o valor limite para lançamento de Cr (III) e Cr (VI) é 0,1 mg L⁻¹ e 1 mg L⁻¹ respectivamente. Águas de abastecimento contém cromo em níveis variando de 0,2 a 35 µg/L, entretanto, a maioria das fontes de água contêm níveis menores que 5 µg/L (ATSDR, 2008).

Algumas espécies acumulam metais pesados em seus tecidos, podendo ser utilizadas na remediação dos ecossistemas aquáticos. Sabe-se que os metais pesados interferem no processo fotossintético e sistemas de transporte de elétrons, gerando espécies reativas de oxigênio, alteração da capacidade respiratória e inibição do crescimento. Os efeitos tóxicos do Cr nos vegetais incluem o comprometimento de germinação de sementes, produção de biomassa, atividade enzimática, conteúdo proteico, nutrição mineral desequilibrada (VAJPAYEE *et al.,* 1999). Segundo Kabata-Pendias e Pendias (2001), maiores concentrações de cromo são observadas em raízes, devido à sua baixa mobilidade e forte ligação a tecidos radiculares.

A fitorremediação é uma tecnologias em ascensão envolvendo o uso de plantas tolerantes para remover, transformar e/ou estabilizar metais (MENCH et al., 2009). As macrófitas com capacidade de absorver estes elementos, podem atenuar a concentração de poluentes, tais como metais, pesticidas, solventes, petróleo e seus derivados. Já a retenção dos metais pelas plantas pode seguir diferentes padrões: ser impedidos de alcançar os tecidos internos da raiz pelas barreiras apoplásticas, ou ser acumulados nos tecidos radiculares, com limitada translocação para parte aérea (MISHRA & TRIPATHI, 2008). Para lidar com a intoxicação há a estratégias de prevenção, evitando o estresse e restringindo a captação de metais do solo ou excluindo-os, por complexação ou exsudação de compostos orgânicos da raiz (DALVI & BHALERAO, 2013). Mas se estes metais conseguem penetrar os tecidos vegetais, mecanismos de tolerância para desintoxicação são ativados, sendo armazenados em compartimentos intracelulares (por exemplo, vacúolo), ligados à parede celular, ativada a biossíntese de osmólitos protetores, complexação intracelular ou quelação (OLIVEIRA, 2012). Assim, os comportamentos específicos e mecanismo de absorção de poluentes implicam na necessidade de estudos que visem à identificação do órgão de acúmulo e seus mecanismos de tolerância, sendo a anatomia quantitativa uma importante ferramenta para contribuir com a elucidação dos efeitos do cromo.



As plantas nativas são usualmente preferidas na fitorremediação por ser mais eficientes em termos de sobrevivência, crescimento e reprodução sob estresse ambiental. *Heteranthera reniformis* Ruiz & Pav (1798) é uma macrófita da família Pontederiaceae, conhecida popularmente por agriãozinho aquático, hortelã do brejo, aguapé mirim entre outros. No Brasil tem ampla distribuição, sendo uma planta perene e herbácea, com cerca de 20 - 50 cm de altura e adaptada tanto à água quanto a solos úmidos. *H. reniformis* é uma planta resistente na retirada de elementos do meio aquático, por usar recursos para a alocação de biomassa radicular mesmo em ambientes pobres em fósforo, bem como de biomassa de caules, que se constitui em um órgão alternativo na absorção de radiação solar (DOMINGOS, 2005). Essa espécie é considerada planta daninha em áreas de arroz irrigado e canais de irrigação pelo seu elevado potencial de infestação e é citada em trabalhos de *wetlands* artificiais (SIPAÚBA-TAVARES & BRAGA, 2008).

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar modificações favoráveis à tolerância de cromo em *Heteranthera reniformis*, avaliando características anatômicas e fisiológicos que possam indicar um potencial para remoção/acúmulo do cromo em seus tecidos.

Materiais e métodos

As plantas foram coletadas em açudes naturais no Sul de Minas Gerais, isentas de suspeita de contaminação. Em casa de vegetação foram lavadas, selecionadas e passaram por um período de aclimatização, sendo cultivadas em bandejas de 4L, contendo solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1950) com 1/5 da força iônica.

A fonte de Cr utilizado foi Cr $(NO_3)_3$ 9H₂O. Os tratamentos utilizados tiveram as seguintes concentrações: O (controle); 20; 40; 80; 160 e 320 mg L⁻¹ de Cr, sendo o delineamento experimental inteiramente casualizado, composto por seis tratamentos com cinco repetições. O experimento teve duração de 15 dias, com uma troca de solução no oitavo dia.

Após o período experimental, as plantas foram coletadas e fixadas em FAA_{70%} (Formaldeído 37%, ácido acético glacial P. A. e etanol 70% na proporção de 0,5: 0,5: 9,0), por 72 horas e posteriormente conservadas em etanol 70%. Para confecção do laminário, as amostras de raiz (zona pilífera) e folha (região mediana) já fixadas foram submetidas à série de desidratação etanólica (70%, 90% e 100%), permanecendo por duas horas em cada uma das soluções. Após essa etapa, as amostras foram infiltradas e incluídas em hidroxietil-metacrilato Leica[®] (Heidelberg, Alemanha), seguindo as instruções propostas pelo fabricante. As secções transversais foram realizadas com auxílio de micrótomo semiautomático rotativo (KD-3368, Ciencor Scientific, São Paulo, Brasil) com a espessura ajustada para 8 µm. Esse material foi corado com azul de toluidina 1% e as secções montadas em lâmina e lamínula com verniz vitral. As secções paradérmicas da folha (faces adaxial e abaxial) foram obtidas a mão livre com lâminas de aço e clarificadas em solução de hipoclorito de sódio 50%, lavadas em água destilada e coradas com solução de safranina 1%.

As lâminas foram observadas em microscópio trinocular (CX31, Olympus Tokyo, Japan) com sistema de captura acoplado, sendo digitalizadas e analisadas em software de análise de imagem UTHSCSA-Imagetool. Nas amostras radiculares foram mensurados os seguintes tecidos/estruturas: espessuras da epiderme, exoderme, córtex, endoderme, circunferência total da raiz, circunferência do cilindro vascular e proporção entre área total e do cilindro vascular. Já os tecidos foliares avaliados foram: espessuras das epidermes, parênquima clorofiliano e



lacunoso, área das câmaras de aerênquima, diâmetros equatoriais e polares. Além destes, foram calculadas a funcionalidade estomática e densidade estomática.

Aos 10 dias de exposição aos tratamentos de cromo foram avaliadas as características de trocas gasosas das plantas através de um analisador de trocas gasosas por infravermelho (IRGA) modelo LI-6400 XT. Avaliou-se a taxa fotossintética líquida (A), a condutância estomática (gs), a taxa transpiratória (E) e a relação entre carbono interno e externo (Ci/Ca), de uma folha jovem completamente expandida em cada repetição por tratamento. As análises foram realizadas no período da manhã entre 9 e 11 horas.

Os dados histométricos foram submetidos ao teste de normalidade, análise de variância e a comparação das médias pelo teste de Scott-Knott para p < 0,05 com auxílio do software estatístico Sisvar.

Resultados e discussão

As raízes de *Heteranthera reniformes* são compostas por epiderme uniestratificada formadas por células de paredes delgadas, exoderme formada por células de paredes espessadas e endoderme unisseriada (Figura 1). As raízes são o primeiro órgão da planta a entrar em contato com a contaminação, portanto, diferenças na estrutura e organização dos tecidos radiculares, assim como no desenvolvimento de barreiras apoplásticas são comuns entre espécies com características favoráveis a tolerância (VACULÍK *et al.*, 2012). Nota-se espessamento na epiderme (160 mg L⁻¹ e 320 mg L⁻¹), endoderme (80,160 e 320 mg L⁻¹) e da exoderme (160 mg L⁻¹ de Cr) (Tabela 1). Isso ocorreu em resposta à adição do cromo no meio de cultivo, já que esses tecidos funcionam como filtros no processo de absorção, considerando o transporte através do apoplasto ou simplasto do córtex para o xilema e parte aérea (SCHREIBER, 2010), assim o espessamento contribui para evitar a translocação de metais pesados e diminuindo os efeitos tóxicos no sistema fotossintético (MARQUES et al., 2011).

A epiderme é a primeira defesa, oferecendo resistência ao fluxo de metais tóxicos e a endoderme a segunda, restringindo a entrada destes no tecido vascular (KONOTOP *et al.*, 2012). Da mesma maneira, a epiderme e endoderme foram espessadas enquanto as células corticais foram degradadas em *Ocimum tenuiflorum* L. tratadas com Cr, além de diminuição no diâmetro da raiz e redução do número de tricomas (RAI *et al.*, 2004). Em *E.crassipes*, a espessura da endoderme também aumentou, reduzindo assim o fluxo de chumbo na parte aérea (PEREIRA *et al.*, 2014). O aumento da espessura da epiderme, exoderme e endoderme é considerado modificação importante para a sobrevivência das plantas a fatores de estresse, sendo o primeiro mecanismo na evitação ao estresse.

Já o córtex, apresentou redução com o aumento das concentrações de Cr (Tabela 1), assim como em *Eucalyptus* spp. na presença de zinco, onde a redução do córtex também influenciaria na distância a ser percorrida até alcançar o tecido vascular (RAMOS *et al.*, 2009). Logo, a distância para entrada e saída de substância será menor até o xilema, porém o espessamento das barreiras dificulta a mobilidade do cromo. Além disso, a circunferência do cilindro vascular, circunferência total da raiz e a proporção entre elas não tiveram alteração significativa nas concentrações avaliadas. Nesse caso, a proporção entre os tecidos radiculares não alterou, contrariando autores que afirmam ser esta uma consequência de exposição contínua aos metais pesados (LUX *et al.*, 2011).

RAIZ								
Cr mg L ⁻¹	EPI(µm)	EXO(µm)	COR(µm)	END(µm)	AER(mm ²)	CRA(mm)	CCI(µm)	PRO (%)
0	16,03 b± 3,41	12,59 b± 3,25	272,95 a± 73,86	7,015c± 1,82	153,36 a± 105,06	2196,48 a±432,49	437,60 a± 63,35	20 a± 0,02
20	15,40 b± 2,21	12,39 b± 2,10	231,27 b± 43,60	8,74 b± 1,73	167,66 a± 36,63	2223,60 a±276,80	428,94 a± 51,35	$20 a \pm 0.02$
40	16,22 b± 3,02	11,97 b± 2,12	235,82 b± 56,31	10,21 a± 1,70	154,78 a± 48,63	2055,98 a ±396,08	462,94 a± 61,35	23 a± 0,05
80	16,57 b±3,50	13,78 a± 2,21	201,42 c±68,02	9,48 b± 2,51	189,83 a± 86,30	2006,88 a± 526,27	409,92 a± 86,03	20 a±0,03
160	18,06 a±3,56	14,10 a±3,54	203,25 c± 57,67	10,65 a± 1,75	134,33 a± 93,70	2072,41 a± 423,27	422,96 a± 61,52	20 a± 0,02
320	17,89 a±3,15	13,48 a± 2,66	213,20 c± 43,98	9,392 b± 1,92	161,84 a±82,46	2159,89 a± 806,42	421,09 a±31,03	20 a± 0,02
Cv (%)	19,05	20,76	29,7	20,84	21,88	23,8	18,67	
				FOL	HA			
Cr mg L ⁻¹	FAB	DAB (mm ²)	DEB (µm)	DPB (µm)	FAD	DAD (mm ²)	DED (µm)	DPD(µm)
0	2,22 a± 0,47	23,66 b± 5,25	20,77 a± 4,72	44,53 a± 5,40	2,01 a± 0,34	43,73 b± 7,72	19,02 a± 3,08	37,5a ± 4,62
20	1,97 a± 0,26	27,67 a± 5,52	19,35 a± 2,15	37,85 b± 3,85	1,84 a± 0,20	44,88 b± 2,29	18,22 a± 3,11	33,07b± 2,61
40	2,08 a± 0,25	28,10 a± 7,06	17,47 b± 2,31	36,12 b± 4,96	1,95 a± 0,18	43,73 b± 7,43	17,01 a±1,75	30,6c± 3,32
80	1,95 a±0,24	28,51 a± 4,70	20,12 a±1,60	38,78 b± 2,90	1,94 a± 0,22	54,63 a± 8,13	17,66 a± 1,45	$34,09b\pm 2,80$
160	2,00 a± 0,30	29,97 a± 7,70	19,09 a± 2,55	37,64 b± 3,30	2,00 a± 0,29	48,61 a± 9,12	16,41 b± 2,68	32,32b± 2,68
320	2,20 a± 0,29	$30{,}25a\pm 6{,}61$	17,77 b± 1,86	25,56 b± 3,08	1,93 a± 0,38	50,19 a± 12,97	15,98 b± 2,51	30,09c± 2,39
Cv(%)	15,45	22,79	15,18	10,71	15,25	20,77	14,2	10,27
				TROCAS G	ASOSAS			
Cr mg L ⁻¹	EAD(µm)	EAB(µm)	PCL(µm)	PLA(µm)	A (μmol m-2 s ⁻¹)	gs (µmol m-2 s ⁻¹)	E (μmol m-2 s ⁻¹)	Ci\Ca
0	24,43 a± 4,94	28,02 a± 6,43	117,12 a± 14,32	121,42 b± 23,33	13,60 a± 6,02	0,44 a± 0,31	09,43 a± 2,42	0,75 a± 0,12
20	23,41 a± 3,06	25,37 a± 4,15	116,5 a± 13,71	139,4 a± 25,18	18,60 a± 2,40	0,66 a± 0,31	11,14 a± 1,70	$0,78 a \pm 0,04$
40	23,10 a± 3,36	24,92 b± 3,88	105,77 b±25,47	112,67 b± 21,13	17,82 a± 4,73	0,51 a± 0,24	10,31 a± 2,62	0,74 a± 0,05
80	24,57 a± 2,99	24,95 b± 4,00	102,43 b±17,78	115,07 b± 23,11	18,53 a± 3,27	0,75 a± 0,35	11,48 a± 2,04	$0,79 \text{ a} \pm 0,07$
160	23,62 a± 2,67	25,19 b± 3,70	114,78 a±11,85	132,02 a±21,99	18,80 a± 5,09	0,79 a± 0,55	11,24 a± 3,16	0,77 a± 0,12
320	23,91 a± 3,06	24,50 b± 3,59	119,71 a±24,17	113,32 b± 28,75	17,62 a± 6,60	0,57 a±0,39	09,88 a± 2,48	0,74 a± 0,10
Cv(%)	14,9	17,28	21,3	15,23	28,27	11,22	23,17	12,47

Tabela 1 - Características anatômicas e fisiológicas de *Heteranthera reniformis* sob concentrações crescentes de cromo (mg L⁻¹).

As médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si (Scott-Knott, 5%). Legenda: EPI=Espessura da epiderme, EXO= Espessura da exoderme, COR= Espessura do córtex, END= Espessura da endoderme, AER= Área das câmaras de aerênquima, CRA= Circunferência total da raiz, CCI= Circunferência do cilindro vascular, PRO= Proporção entre área total e do cilindro vascular, FAB= Funcionalidade estomática na face abaxial, DAB= Densidade estomática na face abaxial, DEB= Diâmetro equatorial dos estômatos da face abaxial, DPB=Diâmetro polar dos estômatos da face abaxial, FAD= Funcionalidade estomática na face adaxial, DAD= Densidade estomática na face adaxial, DED= Diâmetro equatorial dos estômatos da face adaxial, DAD= Densidade estomática na face adaxial, DED= Diâmetro equatorial dos estômatos da face adaxial, DAD= Densidade estomática na face adaxial, DED= Diâmetro equatorial dos estômatos da face adaxial, PCL= Espessura de parênquima clorofiliano, PLA= Espessura do parênquima lacunoso, A= Fotossíntese líquida, gs= condutância estomática, E= Transpiração, Ci/Ca= concentração de CO₂ interno/concentração de CO₂ ambiente.







As folhas são geralmente mais sensíveis e plásticas às mudanças do ambiente, assim como estresse por metais pesados, tipicamente resultam em respostas morfológicas e anatômicas nesse órgão. A espessura da epiderme na face adaxial não apresentou alteração significativa com o aumento da concentração de cromo, já a epiderme na face abaxial teve a espessura reduzida. No parênquima esponjoso, houve aumento da espessura nas concentrações de 20 e 160 mg L⁻¹ e clorofiliano houve redução da espessura nas concentrações de 40 e 80 mg L⁻¹ (Tabela 1 e Figura 2). Uma importante função da epiderme foliar é a realização de trocas gasosas, portanto, modificações na espessura da epiderme podem afetar a resistência à difusão de CO₂, logo, alterações na espessura deste tecido podem afetar também a transpiração. Assim como a redução observada por Pires *et al.*, (2009) nas espessuras da epiderme na face abaxial, bem como no limbo e no clorênquima; redução no número dos feixes vasculares em *Panicum aquaticum*.

Em geral, os tratamentos com metais pesados influenciam no aspecto das características na estrutura foliar: folhas pequenas, lâmina espessa, epiderme adaxial espessa, bem como estômatos abundantes e pequenos. O aumento do parênquima esponjoso permite armazenar e facilita a difusão de CO₂, promovendo maior fluxo deste gás para o interior da folha. Seu espessamento pode ser interpretado como contribuição para a retenção de CO₂, sendo uma das



funções básicas do parênquima esponjoso e do aerênquima e será lentamente utilizado no clorênquima, no processo fotossintético assim como proposto por Pereira *et al.* (2016) em *E. crassipes* em Cd. Não houve alteração significativa nas câmaras de aerênquima (Tabela 1), nem foram detectados danos a estas câmaras de ar o que permitiu a flutuação normal das plantas, mesmo nas concentrações mais elevadas de Cr em seus tecidos. Os aerênquimas também fornecem um caminho de baixa resistência interna para o movimento de gases e fornece espaço para a acumulação de metal e minimizar os efeitos negativos de metais tóxicos (YADAV, 2010).



Figura 2 - Secções transversais de folhas de Heteranthera reniformis submetidas a crescentes concentrações de cromo. EAD= epiderme face adaxial, EAB= epiderme face abaxial, PPA= parênquima paliçádico, PES= parênquima esponjoso. A= 0,0 mg L⁻¹, B= 0,20 mg L⁻¹, C= 0,40 mg L⁻¹, D= 0,80 mg L⁻¹, E= 1,60 mg L⁻¹, F= 3,20 mg L⁻¹. Barras= 50 μm.

Dentre as características anatômicas frequentemente avaliadas, a densidade estomática, espessura da lâmina e parênquima paliçádico, mostram maior plasticidade, sugerindo que essas características são mais sensíveis aos metais pesados. A densidade estomática afeta diretamente as trocas gasosas, mas neste trabalho não apresentou diferença entre os tratamentos para a funcionalidade estomática na face abaxial nem adaxial. No entanto, observou-se redução da densidade estomática tanto na face abaxial (40 mg L⁻¹), quanto adaxial (80 mg L⁻¹) e redução dos diâmetros polares e equatoriais dos estômatos (Tabela 1 e Figura 3). Na folha, estômatos menores apresentam resposta rápida ao estresse com o fechamento dos estômatos, o que limita a condutância dos gases nas folhas e consequentemente limita a fotossíntese e o rendimento (MUTAVA *et al.*, 2011). Já o número maior de estômatos pode favorecer a maior entrada de gás,



o que diminui a resistência estomática. A manutenção da captação de CO₂, foi possibilitada pela funcionalidade estomática se manteve mesmo com alteração dos diâmetros, permitindo o fluxo da CO₂ adequado. Da mesma maneira, plantas de *E. crassipes* aumentaram não apenas densidade estomática, mas também o índice estomático na presença de chumbo (PEREIRA *et al.,* 2014).

Condições ambientais alteram o tamanho e a densidade dos estômatos, com o intuito de auxiliar a planta na tolerância desta condição (CASTRO *et al.*, 2009), mostrando que a planta foi capaz de manter as taxas fotossintéticas mesmo com modificações nessas estruturas. Estômatos maiores e em menor número ocorrem na tentativa de maximizar a taxa de ganho de carbono. Portanto, essas características contribuem para a redução da condutância e difusão CO₂, e levaram a manutenção transpiração e da taxa fotossintética.



Figura 3 - Estômatos da face abaxial e adaxial da folha de *Heteranthera reniformis* em concentrações crescentes de cromo. A e B= 0,0 mg L⁻¹, C e D= 0,80 mg L⁻¹, E e F= 3,20 mg L⁻¹. Barras= 50 μm.

Efeitos de estresse como os provocados por metais pesados podem afetar o crescimento, em virtude de alterações nos processos básicos, principalmente na fotossíntese e respiração (DHIR *et al.*, 2011). A toxicidade dos metais pesados pode ser detectada na taxa fotossintética líquida (A), que por sua vez é também determinada pela concentração de CO₂ no interior da folha (Ci) que é controlada pela condutância estomática (gs). Da mesma forma, a taxa transpiratória (E) também pode ser afetada pelo estresse (AHMAD *et al.*, 2011).



O transporte de metais pesados em plantas depende dos tecidos vasculares e é parcialmente relacionado à intensidade de transpiração. No entanto, não foi verificado efeito dos tratamentos para taxa fotossintética, condutância estomática, taxa transpiratória nem para relação Ci/Ca, demonstrando que as respostas fotossintéticas de *H.reniformis* não foram influenciadas negativamente pelo metal. Tais resultados mostram que as modificações nas espessuras da epiderme e dos parênquimas apresentadas por *H.reniformes* não foram suficientes para afetar a disponibilidade de CO₂ na folha, apesar de seu importante papel nesse aspecto. Além disso, as modificações do parênquima clorofiliano auxiliaram a manter os parâmetros fotossintéticos. Assim, modificações anatômicas nas espessuras destes tecidos são de fundamental importância, uma vez que terão relação direta com a fotossíntese.

Os dados apresentados contrariam o relatado na literatura, onde Cr causou efeitos negativos sobre *A*, *E*, *G* s e Ci /Ca em Lolium perene L. (VERNAY *et al.*, 2007) e em ervilha expostas a Cr (VI) (ZEID, 2001). O estresse de cromo diminuiu as taxas de assimilação de CO₂, principalmente devido ao fechamento estomático, reduzindo a perda de água por transpiração sem diminuir a disponibilidade celular CO₂. O impacto do Cr sobre o aparelho fotossintético pode ser relacionado a reação no PSII, bem como a ultraestrutura do cloroplasto. Além disso, pode ser responsável pela dimensão reduzida da parte periférica do complexo de antena (SHANKER *et al.*, 2005). Plantas que expostas ao Cr exibem uma fotossíntese reduzida pode ser explicado pela inibição da atividade da Rubisco, e a substituições de locais de Mg por metais pesados reduzindo a afinidade da enzima ou ainda, distorcendo a ultraestrutura do cloroplasto, diminuindo a síntese de clorofila e atividades inibidoras de enzimas do ciclo de Calvin (<u>SENGAR et al.</u>, 2008). No entanto, as variáveis fotossintéticas se mantiveram inalteradas estatisticamente, o que mostra que, nas concentrações e período testado, o cromo não afetou a fotossíntese da espécie.

Conclusão

Plantas expostas a diferentes concentrações de cromo podem sofrer alterações em sua anatomia e fisiologia, que caracterizam sua plasticidade sob estresse e permitem sua sobrevivência ou, ao contrário, afetam negativamente seu crescimento e desenvolvimento devido à toxicidade. A espécie *Heteranthera reniformis* sofreu modificações anatômicas em relação à espessura da epiderme, endoderme e exoderme, as quais funcionam como barreiras apoplásticas, sendo considerado um mecanismo favorável a tolerância desta espécie ao Cr. Além disso, modificações no parênquima esponjoso da folha podem favorecer a manutenção das trocas gasosas, apesar de efeitos negativos nas características estomáticas. A ausência de sintomas de toxicidade também indica tolerância da espécie, porém estudos que busquem avaliar a capacidade de absorção e acúmulo do metal e os mecanismos envolvidos ainda são necessários.

Referências bibliográficas

Agency For Toxic Substances And Disease Registry. Toxicological Profile for Chromium. Atlanta: 2008.

AHMAD, M. S. A. *et al.* Lead (Pb)-Induced regulation of growth, photosynthesis, and mineral nutrition in maize (Zea mays L.) plants at early growth stages. *Biological Trace Element Research*, Clifton. 2011; 144: 1229–1239.

CASTRO, E. M. et al. Histologia vegetal: estrutura e função de órgãos vegetativos. Lavras: UFLA, 2009. 234 p.



DALVI, A. A. & S. A. Bhalerao, "Response of plants towards heavy metal toxicity: an overview of avoidance, tolerance and uptake mechanism," *Annals of Plant Sciences*. 2013; 2 (9): 362–368.

DHIR, B. *et al.* Heavy metal induced physiological alterations in *Salvinia natans*. Ecotoxicology and Environmental Safety, New York. 2011; 74:1678–1684.

DOMINGOS, V. *et al*. Alocação de biomassa e nutrientes Heteranthera reniformis sob o efeito de N, P E K. *Planta Daninha*, Botucatu. 2005; 23 (1): 33-42, 21.

FURTADO, M. Química e Derivados. São Paulo: Atheneu, 2003; 15: 412.

KABATA-PENDIAS & PENDIAS. *Trace elements from soil to human*. Springer, Berlin, Heidelberg, New York: 2007.

KAMRAN, M. A. *et al*. The potential of the flora from diferente regions of Pakistan in phytoremediation: a review. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2014: 21; 801-812.

KONOTOP, Y., *et al.* Defense responses of soybean roots during exposure to cádmium excesso of nitrogen supply and combinations of these stressors. *Mol. Biol. Rep.* 2012;39: 10077-10087.

LUX, A. *et al.* Root responses to cadmium in the rhizosphere: a review. *Journal of Experimental Botany*, Oxford. 2011; 62: 21-37.

MARQUES, T. C. L. L.S. M. *et al.* Respostas fisiológicas e anatômicas de plantas jovens de eucalipto expostas ao cádmio. *Revista Árvore*, Viçosa, MG. 2011; 35 (5):997-1006.

MENCH M. *et al.* Assessment of successful experiments and limitations of phytotechnologies: contaminant uptake, detoxification and sequestration, and consequences for food safety. *Environ Sci Pollut Res.* 2009; 16:876–900.

MISHRA, V. K. & Tripathi, B. D. Concurrent removal and accumulation of heavy metals by the three aquatic macrophytes. *Bioresource Technology*. 2008.

OLIVEIRA, H. "Chromium as an environmental pollutant: insights on induced plant toxicity," *Journal of Botany*. 2012.

PEREIRA, F. J. *et al.* Lead tolerance of water hyacinth (Eichhornia crassipes Mart. - Pontederiaceae) as defined by anatomical and physiological traits. *Anais da Academia Brasileira de Ciências (Online).* 2014; 86: 1423-1433.

PEREIRA, F. J. *et al*. Evolução da anatomia radicular do milho 'Saracura' em ciclos de seleção sucessivos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília. 2008; 43 (12): 1649-1656, Dez.

RAI, V. *et al.* Effect of chromium accumulation on photosynthetic pigments, oxidative stress defense system, nitrate reduction, proline level and eugenol content of Ocimum tenuiflorum L. *Plant Science*. 2004; 167(5): 1159–1169.

PIRES, M.F. Mechanisms of the internal structure and operation of Panicum aquaticum in response to arsenic. *Revista de Ciências Agrárias* (Belém). 2013; 56: 89-94.



SCHNEIBER, I.A.H. *et al.* Eichhornia crassipes as biosorbents for heavy metal ions. *Minerals Engineering*. 2005; 8 (9): 979–988.

SENGAR, R. K., *et al.* Lead stress effects on physiobiochemical activities of higher plants. *Rev. Environ. Contam.Toxicol.* 2008; 196: 73-93.

SHANKER A.K. et al. Chromium toxicity in plants. Environ Int. 2005; 31:739–753.

SINGH, H.P. et al. Chromium toxicity and tolerance in plants. Environ. Chem. Lett. 2013; 11(3): 229-254.

SIPAÚBA-TAVARES, & BRAGA, Francisco Manoel de Souza. Constructed wetland in wastewater treatment. *Acta Sci. Biol. Sci.*, Maringá. 2008; 3 (30): 261-26.

VACULÍK, M. *et al*. Root anatomy and element distribution vary between two *Salix caprea* isolates with different Cd accumulation capacities. *Environmental Pollution*, Barking. 2012; 163: 117-126.

VAJPAYEE P. *et al.* Bioaccumulation of chromium and toxicity to photosynthetic pigments, nitrate reductase activity and protein content of Nelumbo nucifera Gaertn. *Chemosphere*, v.39, p. 2159–69, 1999.

VERNAY, P. *et al.* Interaction of bioaccumulation of heavy metal chromium with water relation, mineral nutrition and photosynthesis in developed leaves of Lolium perenne L. *Chemosphere*. 2007; 68(8):1563–1575.

WUANA, R. A. & F. E. Okieimen, "Heavy metals in contaminated soils: a review of sources, chemistry, risks and best available strategies for remediation," *ISRN Ecology*. 2011.

YADAV, S.K. Heavy metals toxicity in plants: na overview on the role of glutathione and phytochelatins in heavy metal stress tolerance of plants. *South afr.J. Bot*.2010; 76: 167-179.

ZEID., I. M. Responses of Phaseolus vulgaris to chromium and cobalto tratments. *Biol Plant* 2001; 44: 44-111.

¹Ana Carolina Oliveira Duarte; Doutora (2018) em Botânica Aplicada pela Universidade Federal de Lavras; acoliveiraduarte@gmail.com;

²Marinês Ferreira Pires Lira; Doutora em Botânica Aplicada pela Universidade Federal de Lavras; marines.pires@ufla.br;

³Cynthia de Oliveira; Doutora em Agronomia (Fisiologia Vegetal) pela Universidade Federal de Lavras; cynthia ufla@yahoo.com.br;

⁴Elícia Trindade Alves; Mestrado em Agronomia (Fitopatologia) pela Universidade Federal de Lavras; lylytrindade@hotmail.com;

⁵Evaristo Mauro de Castro; Doutor em Agronomia (Fitotecnia) pela Universidade Federal de Lavras; emcastro@ufla.br.

^{1,2,3,4,5}Universidade Federal de Lavras- Programa de Pós Graduação em Botânica Aplicada, Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000 - Lavras/MG, e-mail: acoliveiraduarte@gmail.com.



Este artigo:

Recebido em: 10/2019 Aceito em: 07/2020

Como citar este artigo:

DUARTE, A. C. O. et al. Anatomia e trocas gasosas de *Heteranthera reniformis* Ruiz & Pav. em resposta ao Cromo. *Scientia Vitae*, v.10, n.31, p. 1-12, out./nov/dez. 2020.