

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS
ENGENHARIA AMBIENTAL

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE BIOACUMULAÇÃO
DE CROMO POR *PISTIA STRATIOTES*

Aluno: Marcus Vinicius de Lima

Orientador: Profa. Dra. Patrícia Carla Giloni de Lima

Monografia apresentada ao curso de
graduação em Engenharia Ambiental,
da Escola de Engenharia de São Carlos,
da Universidade de São Paulo.

São Carlos, SP

2010

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE
TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO,
PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Tratamento
da Informação do Serviço de Biblioteca – EESC/USP

L732a Lima, Marcus Vinicius de Lima
Avaliação do potencial de bioacumulação de cromo por
Pistia stratiotes / Marcus Vinicius de Lima ; orientador
Patrícia Carla Giloni de Lima -- São Carlos, 2010.

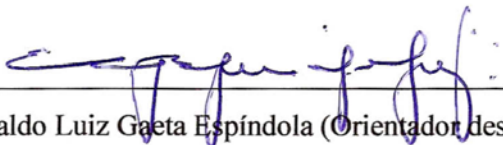
Monografia (Graduação em Engenharia Ambiental) --
Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade
de São Paulo, 2010.

1. Fitorremediação. 2. Alface d'água. 3. Metal. 4.
Organismo-teste. 5. Toxicidade. I. Título.

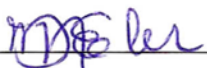
FOLHA DE APROVAÇÃO

Candidato: Marcus Vinícius de Lima

Monografia defendida e aprovada em: 24/11/2010 pela Comissão Julgadora:



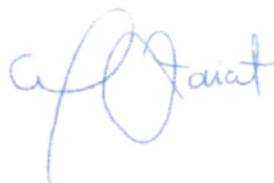
Prof. Dr. Evaldo Luiz Gaeta Espíndola (Orientador designado)



Dra. Márcia Noélia Eler



Dra. Claudia Fileto



Prof. Dr. Marcelo Zaiat

Coordenador da Disciplina 1800091- Trabalho de Graduação

Dedico esse trabalho aos meus pais e a minha
madrinha, que sempre me ajudaram e
acreditaram em mim.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Profa. Dra. Patrícia Carla Giloni de Lima, não só pela orientação, paciência, oportunidade e disposição, mas principalmente pelo exemplo de dedicação e trabalho.

Ao Prof. Dr. Evaldo Luiz Gaeta Espíndola pela oportunidade, instrução e disposição.

Ao Vanderlei pelas análises, auxílio, sugestões e a imensa ajuda durante a realização deste trabalho.

Aos técnicos Amandio e Marcelo pela ajuda nos trabalhos, dicas, ensinamentos e os momentos de descontração.

À Márcia Eler pelo empurrão inicial e a todos os amigos do CRHEA que me fizeram companhia durante todo esse tempo.

À minha família pelo apoio, carinho, confiança e dedicação.

À todos os meus amigos, que tornam tudo mais fácil e inesquecível.

Resumo

LIMA, M. V. **Avaliação do potencial de bioacumulação de cromo por *Pistia stratiotes***. 2010. Monografia, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2010.

Esse trabalho teve como objetivo avaliar a bioacumulação em *Pistia stratiotes* do metal cromo, visando avaliar seu potencial como organismo-teste em bioensaios e a recomendação de sua utilização em sistemas de biorremediação perante aos sérios problemas ambientais que estes podem causar, ao perigo que representam à saúde humana e os custos elevados dos processos físico-químicos de remoção de metais pesados. Em decorrência desses fatores e por apresentarem crescimento rápido, exigências simples de crescimento e boa habilidade na absorção e incorporação de materiais dissolvidos na água em seus próprios tecidos, foi utilizada a macrófita *Pistia stratiotes*. As plantas foram submetidas ao tratamento com 1,0; 1,7; 3,5; 5,3 e 6,0 mg Cr L⁻¹, com tempos de exposição de 5, 7, 15, 18 e 21 dias, sendo colocados 2 indivíduos em recipientes de 2 litros contendo 1 litro de solução nutritiva. Foram avaliados os efeitos causados pelo cromo no crescimento, na concentração de clorofila *a*, *b* e total e a bioacumulação do cromo nas raízes e folhas de *P. stratiotes*. Verificou-se que houve diminuição do crescimento das plantas em relação ao controle, podendo afirmar que o cromo interfere de forma significativa no crescimento das plantas. Foi observado que nas concentrações de 1,7 a 6,0 mg Cr L⁻¹ na solução nutritiva diminuíram os conteúdos de clorofila *a*, *b* e total em *P. stratiotes*. A variação do teor de pigmentos clorofilianos mostrou-se bom indicador da contaminação por cromo, podendo ser utilizado com parâmetro em bioensaios. Houve bioacumulação de cromo por *P. stratiotes*, as raízes apresentaram maior potencial de acumulação do metal, em geral, observou-se que bioacumulação de cromo foi maior nas plantas expostas a maiores concentrações de cromo, os resultados demonstram que a *P. stratiotes* tem um grande potencial para ser utilizada como organismo bioacumulador de cromo em sistemas de biorremediação.

Palavras-chave: **alface d'água, metal, fitorremediação, organismo-teste, toxicidade.**

Lista de figuras

Figura 4.1. Cultivo de <i>P. stratiotes</i>	14
Figura 5.1 Variação temporal no número de folhas em <i>P. stratiotes</i> após 21 dias de exposição a diferentes concentrações de cromo.	20
Figura 5.2. Taxa de crescimento relativo de <i>P. stratiotes</i> após 21 dias de exposição a diferentes concentrações de cromo.....	21
Figura 5.3. Estimativa do teor de clorofila (Chl) <i>a</i> , <i>b</i> e total em <i>P. stratiotes</i> , após 21 dias de exposição a diferentes concentrações de cromo.....	22
Figura 5.4 – Concentração de cromo nas raízes e partes aéreas de <i>P. stratiotes</i> , após 21 dias de exposição a diferentes concentrações de cromo.....	25

Lista de tabelas

Tabela 4.1. Composição da solução nutritiva utilizada nos testes de toxicidade com <i>P. stratiotes</i> (ODJEGBA; FASIDI, 2004).	15
Tabela 5.1 Diâmetro médio das plantas de <i>P. stratiotes</i> após 21 dias de exposição a diferentes concentrações de cromo.....	18
Tabela 5.2. Equações das análises de regressão da estimativa do teor de clorofila em <i>P. stratiotes</i> , após 21 dias de exposição a diferentes concentrações de cromo.....	23
Tabela A.1. Diâmetros das plantas obtidos durante o experimento e utilizados para o cálculo dos diâmetros médios.....	35
Tabela A.2. Número de folhas em cada planta obtido durante o experimento e utilizado para o cálculo dos numero médio de folhas das plantas.....	36
Tabela A.3. Valores das massas das plantas obtidos durante o experimento e utilizados para o cálculo das massas médias das plantas.	37
Tabela A.4. Taxa de crescimento relativo	38
Tabela B.1. Teor de pigmentos.....	39
Tabela C.1. Concentração de cromo nas folhas das plantas obtidas no final do experimento.	41
Tabela C.2. Concentração de cromo nas raízes das plantas obtidas no final do experimento.	42

SUMÁRIO

RESUMO	I
LISTA DE FIGURAS	II
LISTA DE TABELAS.....	III
SUMÁRIO.....	IV
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1. MACRÓFITAS	4
2.2. METAIS PESADOS	6
2.3. CROMO	9
2.4. FITORREMEDIAÇÃO.....	9
2.5. ECOTOXICOLOGIA.....	11
2.6. ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS	12
3. OBJETIVOS GERAL E ESPECÍFICO	13
3.1. OBJETIVOS GERAL	13
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	13
4. MATERIAIS E MÉTODOS	14
4.1. CULTIVO E MANUTENÇÃO DE P. STRATIOTES	14
4.2. TESTES DE TOXICIDADE	15
4.3. BIOACUMULAÇÃO DE METAIS	16
4.4. TEOR DE PIGMENTOS.....	16
4.5. PARÂMETROS DE CRESCIMENTO.....	16
4.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA	17
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	18
5.1. DIÂMETRO	18
5.2. NÚMERO DE FOLHAS	19
5.3. TAXA DE CRESCIMENTO RELATIVO	20

5.4. TEOR DE PIGMENTOS	21
5.5. ASPECTOS RELACIONADOS A BIORREMEDIAÇÃO	24
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	27
7. REFERÊNCIAS.....	28
APÊNDICE A PARÂMETROS DE CRESCIMENTO	35
APÊNDICE B TEOR DE PIGMENTOS.....	39
APÊNDICE C CONCENTRAÇÃO DE CROMO.....	41

1. INTRODUÇÃO

O aumento nas atividades industriais tem intensificado a poluição ambiental e a deterioração de alguns ecossistemas com acúmulo de poluentes tais como metais pesados, compostos sintéticos, etc. (VEGLIO; BEOLCHINI, 1997). Com isso considerável atenção tem sido dada aos métodos de remoção de metais dos ambientes aquáticos face aos sérios problemas ambientais que estes podem causar e aos perigos que representam à saúde humana.

Os metais ocorrem naturalmente e muitos deles são componentes essenciais dos ecossistemas (DE VOS et al., 1991; ODJEGBA; FASIDI, 2004; PINTO et al., 2003; RAVEN et al., 1999). São introduzidos no ambiente por meio do intemperismo das rochas, ações antrópicas, descarga de efluentes industriais e domésticos, mineração, entre outros (MIRETZKY et al., 2006; RAI et al., 2002).

Dentre os metais pesados, o magnésio, ferro, zinco, manganês, cobre, cobalto, molibdênio e boro são essenciais aos seres vivos, ainda que em concentrações muito pequenas, e atuam em diversos processos fisiológicos. Contudo, em altas concentrações, são potencialmente tóxicos. Outros metais, como mercúrio, chumbo, cádmio, cromo e níquel não têm função biológica conhecida e comumente apresentam toxicidade aos organismos (ESTEVES, 1988; FREEDMAN, 1995; OCHIAI, 1995; ODJEGBA; FASIDI, 2004).

Tem sido dada grande importância aos métodos físico-químicos de remoção de metais dos ambientes aquáticos face aos sérios problemas ambientais que estes podem causar e aos perigos que representam à saúde humana. Embora o emprego de técnicas de precipitação química, troca iônica, processos eletroquímicos e de osmose reversa

sejam eficientes, os custos são elevados e por isso, tem utilizações reduzidas. Desta maneira, a remoção de metais por processo biológicos é viável e de grande interesse ecotecnológico. Os organismos mais eficientes são as bactérias, fungos, algas e plantas aquáticas (HO et al., 2002; KAEWSARN, 2002; VASUDEVAN et al., 2001).

A fitorremediação é uma tecnologia de depuração que envolve o uso de plantas com o objetivo de eliminar riscos ambientais resultantes do acúmulo de toxicantes químicos ou outros resíduos perigosos. A escolha da espécie ideal para remediar um local contaminado depende de sua capacidade em bioacumular e tolerar altas concentrações de metais (ODJEGBA; FASIDI, 2004).

Macrófitas aquáticas são taxonomicamente próximas das plantas terrestres, porém são fanerógamas aquáticas, residindo em ambientes completamente diferentes (VARDANYAN; INGOLE, 2006). As plantas aquáticas são encontradas geralmente em lagos, rios e alagados e apresentam potencial de crescimento rápido, exigências simples de crescimento e boa habilidade na absorção e incorporação de materiais dissolvidos na água em seus próprios tecidos, sendo, portanto, filtros eficientes. Essa habilidade de acumulação de vários poluentes pode ser amplamente explorada em ecotecnologia (NIGAM et al., 1998; VARDANYAN; INGOLE, 2006).

A maioria dos estudos de bioacumulação em macrófitas é centrada na avaliação de eficiência de remoção de poluentes ou dos efeitos tóxicos destes nos organismos. Ressalta-se que os conhecimentos neste campo são importantes tanto para a compreensão do comportamento das macrófitas, como para a otimização dos processos de depuração de efluentes, realizado através de *wetlands* artificiais. Contudo, estes conhecimentos ainda são escassos. Além disso, a maioria das pesquisas é desenvolvida com o emprego de plantas que crescem em sistemas hidropônicos, sendo por isso,

pouco conhecidos os processos de absorção de metais pelas macrófitas (NIGAM et al., 1998; SUÑE et al., 2007).

Os mecanismos de bioacumulação de metais por macrófitas não são necessariamente os mesmos para todas as espécies. Há variações em função das diferentes espécies e dos diferentes metais. Dentre os processos utilizados podemos mencionar: sorção pelas raízes (uma combinação de processos físicos e químicos, tais como: quelação, troca iônica e precipitação química), e os processos biológicos incluindo translocação para a parte-aérea e a precipitação induzida por exudatos das raízes ou por microrganismos (SUÑE et al., 2007).

Segundo Suñe et al. (2007) e Maine et al. (2004), a precipitação mediada pela raiz e os processos biológicos de absorção intracelular são provavelmente responsáveis pela componente lenta da remoção do metal da solução. Esta componente apresenta diferenças entre ambas as espécies de macrófitas mais usadas para testes de bioacumulação de metais em ecossistemas aquáticos, *Pistia stratiotes* e *Salvinia herzogii*.

Masutti et al. (2006) estudaram a sensibilidade da *P. stratiotes* a Cobre e Cromo, calculando-se CE50 e CL50, avaliando-se o número de folhas e raízes e concluíram que a *P. stratiotes* apresenta as características necessárias para a sua utilização em testes de toxicidade.

No presente estudo foi analisado o potencial da *P. stratiotes* ser utilizada como organismos teste através da análise de parâmetros de crescimento e também dos teores clorofilianos. Outro ponto importante estudado foi a possibilidade da utilização da *P. stratiotes* com organismo biorremediador, verificando-se o acúmulo de cromo nas raízes e folhas das plantas.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Macrófitas

A definição de macrófitas aquáticas difere de acordo com cada autor. Para o Programa Internacional de Biologia (IBP), as macrófitas aquáticas são vegetais que habitam desde brejos até ambientes verdadeiramente aquáticos. Esta definição é a mais aceita segundo Esteves (1988), que as classifica de acordo com seu biótipo:

- Anfíbia: plantas que podem viver tanto em áreas alagadas como fora da água;
- Emergente: plantas enraizadas no sedimento, porém com folhas fora da água;
- Flutuante fixa: plantas enraizadas no sedimento, porém com caules e folhas flutuantes;
- Flutuante livre: macrófitas não enraizadas flutuando livremente e podendo ser arrastada pelo vento, correnteza e animais;
- Submersa fixa: planta enraizada no sedimento, crescendo totalmente abaixo da água, podendo as flores saírem da água;
- Submersa livre: macrófitas não enraizadas, totalmente submersas, podendo apenas ser as flores emergidas;
- Epífita: macrófitas que se instalam sobre outras plantas aquáticas.

Por serem vegetais que retornaram do ambiente terrestre para o aquático, as macrófitas apresentam ainda várias características de vegetais terrestres, como cutícula e estômatos, não funcionais na maioria das espécies, além de grande capacidade de adaptação e amplitude ecológica, possibilitando que a mesma espécie colonize os mais diferentes tipos de ambientes: fitotelmos, fontes termais, cachoeiras, lagos, lagoas, represa, brejos, rios, riachos, corredeiras, ambientes salobros (estuários, lagoas e lagos

de regiões áridas) e salinos (baías, recife de corais, praias arenosas e rochosas) (ESTEVES, 1988).

Macrófitas são benéficas para os sistemas aquáticos, pois fornecem alimento e abrigo para peixes e invertebrados, liberando também oxigênio, que ajuda no funcionamento de todo sistema aquático (VARDANYAN; INGOLE, 2006). Segundo Esteves (1988) as macrófitas também tem grande importância em outros aspectos tais como na formação de detritos orgânicos, na estocagem e ciclagem de nutrientes, no controle da poluição e eutrofização artificial, entre outros. Assim, as macrófitas aquáticas têm importância nos ambientes aquáticos, pois servem de base na cadeia alimentar desses ecossistemas.

Estes organismos também representam verdadeiros filtros biológicos, contribuindo para manutenção dos ecossistemas aquáticos, razão que conduz os pesquisadores à compreensão de suas funções no ambiente aquático, como os seus mecanismos de tolerância em presença dos metais (NIGAM et al., 1998; SANITÀ DI TOPPI et al., 2007).

Aspectos fisiológicos e de biorremediação têm sido estudados na macrófita aquática *Pistia stratiotes* L. (TARLYN, 1998). Os trabalhos realizados com *P. stratiotes* referem-se à sua distribuição, composição química e sua utilização em reservatórios construídos para tratamento de efluentes. A utilização dessas plantas como biorremediadoras no tratamento de águas residuárias e como indicadores de contaminação ambiental são mais comuns que seu uso em testes de toxicidade, onde a bioacumulação é o fator mais rotineiramente investigado (KLUMPP et al., 2002; MAINE et al., 2004).

Odjeba e Fasidi (2004) estudaram a toxicidade de oito metais pesados (Zn, Cr, Cu, Pb, Ag, Cd, Hg e Ni) e o seu potencial de acumulação na *P. stratiotes*. Os estudos

mostraram que a espécie tem grande capacidade de acumular Zn, Cr, Cu, Pb, Ag e Cd, e capacidade moderada e pequena de acumular Hg e Ni, respectivamente. Também foram identificados diferentes níveis de alterações no crescimento radicular das plantas dependendo do metal e de sua concentração na solução.

Maine et al. (2004), estudaram a bioacumulação de Cr^{3+} em *S. herzogii* e em *P. stratiotes*, sendo que ambas se mostraram eficientes bioacumuladoras de Cr^{3+} , em especial a *P. stratiotes* que demonstrou maior capacidade de acumular o Cr^{3+} na raiz, com a maior parte do metal encontrada na parte superior das plantas foi devido ao contato das folhas com a solução de cultivo.

2.2. Metais pesados

O termo metal pesado é aplicado a um grupo heterogêneo de elementos, incluindo metais, semi-metais e não metais (MELO et al., 1997) que possuem número atômico maior que 20 ou peso específico maior que 5 g cm^{-3} (MALAVOLTA, 1994). Estes também são conhecidos como elementos traços, por serem naturalmente encontrados em concentrações de poucas partes por milhão (MATTIAZZO-PREZOTTO, 1994). Alguns metais, como alumínio e berílio, não se enquadram na definição acima, mas mesmo assim são comumente referidos como metais pesados (GRATÃO, 2003).

Os metais são introduzidos no meio ambiente de várias maneiras: (1) por meio do intemperismo das rochas, sendo, portanto de ocorrência natural e componentes essenciais do ecossistema (DE VOS et al., 1991; ODJEGBA; FASIDI, 2004; PINTO et al., 2003; RAVEN et al., 1999); (2) por ações antrópicas, tais como: descarga de efluentes industriais e domésticos, e mineração; (3) ou ainda pelo uso de fertilizantes e pesticidas, os quais também são fontes e sua entrada no sistema, e se dá pelo

escoamento superficial da agricultura e, parcialmente pela deposição particulada (MIRETZKY et al., 2006; RAI et al., 2002). Destes, o magnésio, ferro, zinco, manganês, cobre, cobalto, molibdênio e boro são essenciais aos seres vivos, ainda que em concentrações muito pequenas, e atuam em diversos processos fisiológicos, porém, em altas concentrações, são geralmente tóxicos. Outros metais, como mercúrio, chumbo, cádmio, cromo e níquel não têm função biológica conhecida e comumente apresentam toxicidade aos organismos (ESTEVES, 1988; FREEDMAN, 1995; OCHIAI, 1995; ODJEGBA; FASIDI, 2004).

Os metais têm contribuído de forma significativa para a poluição do ar, da água e do solo, interferindo temporária ou permanentemente na manutenção da biota terrestre e aquática (SINHA et al., 2005). Assim, tem-se verificado, no decorrer da história das civilizações, os reflexos da expansão acelerada dos núcleos urbanos, do desenvolvimento industrial e agrícola, os quais, apesar dos inúmeros benefícios ao homem, impõem também restrições ao uso dos recursos naturais (DORNFELD, 2002).

Schutzendubel et al., (2001) apud Gratão (2003), relatam que são bem conhecidos que os metais pesados podem gerar estresse oxidativo. No entanto, o papel do sistema antioxidante no estresse por metais é controverso, com resultados bastante variáveis. Segundo Gratão et al. (2003), as principais razões podem ser pelo fato:

- que os metais apresentam diferentes mecanismos de indução de estresse oxidativo;
- que o sistema antioxidante de célula apresenta uma grande diversidade de componentes e é compartimentalizado, diferindo entre os compartimentos e organelas da célula e entre células e tecidos;

- que o sistema de desintoxicação/complexação dos metais pode reduzir os efeitos dos metais em diferentes intensidades, sendo que o estresse oxidativo pode ser problemático apenas depois que este sistema está sobrecarregado.

Além disto, a glutatona, um componente bastante importante do sistema antioxidante da célula, também é precursora para a síntese de fitoquelatinas, que são agentes complexantes de metais pesados em vegetais, de maneira que o sistema antioxidante e o sistema de desintoxicação de metais da célula podem ser competitivos entre si.

Os metais pesados oferecem riscos às macrófitas por causarem danos na membrana plasmática, alterações ultra-estruturais nas organelas, comprometem processos fisiológicos e retarda o crescimento (SINHA et al., 2005).

O teor de pigmentos nas plantas é considerado como um dos parâmetros sensíveis a condições de estresse de toxicidade particularmente de metais pesados. A inibição de biosíntese de clorofila é relatada quando a planta está sob estresse metálico (SINHA et al., 2002) o que pode estar relacionado com a redução da atividade do δ -aminolevulínico desidratase. (PADMAJA et al., 1990). Os caratenóides são uma parte do pigmento fotosintético, executando um papel importante na proteção do pigmento da clorofila sob condições de estresse. Os caratenóides são reconhecidos por mitigar as reações fotodinâmicas que levam a perda de clorofilas, restituir a peroxidação e o colapso da membrana no cloroplasto (KNOX; DODGE, 1985).

Quanto aos ecossistemas aquáticos, tem sido verificado um aumento significativo nos estoques de metais, relacionados principalmente a origem antrópica e, uma vez inserido no sistema aquático, os metais se distribuem no material em suspensão (biótico e abiótico), no sedimento, na água superficial e na água intersticial (DORNFELD, 2002).

2.3. Cromo

O cromo é um elemento químico de número atômico 24 e peso igual a 51,996. São encontrados três isótopos estáveis na natureza ^{52}Cr , ^{53}Cr e ^{54}Cr . O mais abundante é o ^{52}Cr (83,789%). Tem-se caracterizado 19 radioisótopos, sendo o mais estável o ^{50}Cr , com uma meia vida de mais de $1,8 \times 10^{17}$ anos, seguido do ^{51}Cr com uma meia vida de 27,7025 dias. Os demais têm uma meia-vida de menos de 24 horas, sendo a maioria de menos de um minuto. Possui dois estados de oxidação mais estáveis e comuns Cr^{3+} e Cr^{6+} . Os dois estados de oxidação definem propriedades diferenciadas ao cromo em termos de mobilidade no ambiente, comportamento químico e bioquímico, biodisponibilidade e toxicidade. O Cr^{3+} é considerado um elemento traço essencial para o funcionamento apropriado de organismos vivos, enquanto o Cr^{6+} pode exercer efeitos tóxicos em sistemas biológicos (MARCOLAN, 2009).

As principais emissões de cromo em águas superficiais são provindas de processos de finalização metálica, como por exemplo, a cromagem e galvanoplastia. Emissões descontroladas têm grande potencial para contaminação de ambientes de água doce com o cromo Cr^{6+} , a forma mais tóxica do cromo. Outras descargas menores de Cr^{6+} são provenientes de recirculação de águas de resfriamento e produtos químicos de lavanderia. Fontes de cromo (III) incluem descargas líquidas de curtimento de couro e tingimento têxtil

2.4. Fitorremediação

A fitorremediação é a técnica que utiliza plantas com capacidade de remover, estabilizar ou degradar os contaminantes por meio da ação das raízes e dos microorganismos associados (SCHRÖDER, 2003).

A necessidade de métodos econômicos e eficientes para a remoção dos metais tem resultado no desenvolvimento de novas tecnologias de separação (KEFALA et al., 1999). A fitorremediação apresenta grande potencial em relação a métodos físico-químicos, oferecendo menor impacto ambiental e custo de implementação (SALT et al., 1998, SINGH et al., 2003)

O princípio da fitorremediação se baseia nos mecanismos de tolerância à acumulação de metais existente nas plantas, de forma a manter as funções celulares mesmo na presença de altas concentrações de metais. Estes mecanismos incluem a compartimentalização dos metais em estruturas sub-celulares; exclusão e/ou diminuição do transporte através da membrana; e a formação de peptídeos quelantes, ricos em cisteína, como as fitoquelatina e metaloioneínas, que auxiliam direta ou indiretamente, na acumulação de metais pelas plantas (COBBETT; GOLDSBRUGH, 2002).

Dentre as técnicas de fitorremediação pode-se citar a fitoextração e a fitoestabilização. A fitoextração utiliza plantas hiperacumuladoras ou não hiperacumuladoras, com a capacidade de armazenar altas concentrações de metais. Nas plantas hiperacumuladoras, os contaminantes são absorvidos pelas suas raízes e nelas armazenados, ou transportados e acumulados nas partes aéreas, em um processo de extração natural e contínuo. Na fitoestabilização os contaminantes são imobilizados no próprio solo por meio de absorção e acúmulo nas raízes (TERRELL, 2007).

Pistia stratiotes é usada para fitorremediação de águas residuárias ou de corpos d'água poluídos com metais pesados. A espécie exibe diferentes padrões de resposta à prata, cádmio, cromo, cobre, mercúrio, níquel, chumbo e zinco. À concentração de 5 mM de cada um destes metais, foram observados: inibição do crescimento e produção de biomassa em *P. stratiotes*, com quase todos os elementos sendo acumulados à altas concentrações no sistema radicular (SHAH; NONGKYNRIH, 2007).

2.5. Ecotoxicologia

Segundo NOGUEIRA NETO (2009), o termo Ecotoxicologia foi criado pelo pesquisador francês René Truhaut em 1969, englobando duas ciências, a Ecologia e a Toxicologia. A Ecologia estuda a diversidade e a representatividade dos organismos e seu significado nos ecossistemas, e a Toxicologia estudam os efeitos adversos dos poluentes sobre o organismo, sendo o agente tóxico a substância capaz de causar danos ao sistema biológico.

A Ecotoxicologia é um ramo da toxicologia que estuda a relação dos efeitos tóxicos das substâncias químicas presentes no ambiente, sobre os organismos vivos do ecossistema, especialmente em populações e comunidades de um ecossistema, incluindo os caminhos da transferência desses agentes e sua interação com o ambiente (AZEVEDO; CHASIN, 2003).

Segundo GUSMÃO (2004), com o aumento da contaminação por metais pesados e outros contaminantes e seus efeitos sobre o homem e o ambiente, a Ecotoxicologia se tornou cada vez mais necessária para que se pudesse avaliar, quantificar e definir limites para a emissão destes e de outros contaminantes, para dessa forma identificar e controlar o lançamento de efluentes no ambiente aquático. É de grande importância a realização de testes de toxicidade, cuja interpretação e extrapolação das informações obtidas em laboratório possibilitam avaliar os níveis de contaminantes que estejam dentro de limites seguros e aceitáveis para a manutenção da saúde dos ecossistemas.

2.6. Ensaio Ecotoxicológicos

Os ensaios ecotoxicológicos são caracterizados pela exposição de organismos aquáticos a várias concentrações de um efluente ou de uma substância química em um determinado período de seu ciclo de vida (LAMEIRA, 2008). No ensaio de toxicidade determina-se o efeito das substâncias em função do tempo e em condições controladas sobre um organismo-teste. Os efeitos podem ser agudos ou crônicos e resultam em morte ou em mudanças morfológicas, fisiológicas e histológicas, manifestando-se em alterações no crescimento, em deformações e no comportamento dos organismos-testes (KNIE; LOPES, 2004; ZAGATTO; BERTOLETTI, 2006).

Ensaio de ecotoxicidade aguda são caracterizados por abrangerem um curto período do ciclo de vida dos organismos testes, sendo então um período variável para cada espécie. Estes testes avaliam os efeitos quantitativos, não evidenciando efeitos que poderiam ocorrer em tempos mais prolongados de exposição, tais como o de bioacumulação, efeitos sobre a reprodução e o crescimento.

Os ensaios de toxicidade aguda são importantes para fornecer informações fundamentais e rápidas para o desenvolvimento e adoção de critérios para a melhoria da qualidade ambiental (FONSECA 1991 apud LAMEIRA, 2008).

Ensaio de ecotoxicidade crônica geralmente compreendem um maior período de realização, que varia de acordo com o ciclo de vida do organismo-teste. Os ensaios de ecotoxicidade crônicos possuem a finalidade de estudar os efeitos subletais, como por exemplo, efeitos no crescimento e na reprodução de diferentes concentrações de substâncias tóxicas (LAMEIRA, 2008).

3. OBJETIVOS GERAL E ESPECÍFICO

3.1. Objetivos Geral

A presente pesquisa teve por objetivo avaliar o potencial de uso da espécie *P. stratiotes* como organismo-teste de toxicidade e sua capacidade de bioacumulação visando à aplicação em processos de biorremediação.

3.2. Objetivos específicos

- Avaliar como a toxicidade causada pelo cromo afeta o crescimento de *P. stratiotes* através da análise de parâmetros de crescimento;
- Avaliar a bioacumulação de cromo em raízes e folhas de *P. stratiotes*;
- Avaliar o efeito da toxicidade de cromo na concentração das clorofilas *a* e *b* em *P. stratiotes*.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Cultivo e Manutenção de P. stratiotes

Os exemplares de *P. stratiotes* provenientes da Bacia Hidrográfica do Itanhém, foram doadas pelo Prof. Dr. Antonio Fernando Monteiro Camargo, da Universidade Estadual Paulista (UNESP) de Rio Claro, sendo cultivadas nas dependências do Centro de Recursos Hídricos e Ecologia Aplicada (CRHEA), da Universidade de São Paulo em São Carlos.

O cultivo foi estabelecido em caixas de água com capacidade de 1.000 L, às quais foram adicionados 45 L de terra vegetal e 400 g de adubo (N:P:K na proporção de 14:4:8) diluídos em aproximadamente 800 L de água. O pH foi mantido em torno de 7,0 sendo ajustados com o uso de NaOH 1N.



Figura 4.1. Cultivo de *P. stratiotes*

4.2. Testes de Toxicidade

As soluções de cromo foram preparadas com concentrações iguais a 1,0; 1,7; 3,5; 5,3 e 6,0 mg L⁻¹, para a preparação das soluções com as concentrações desejadas foi utilizada uma solução de dicromato de potássio 1 N. Os tempos de exposição foram de 5, 7, 15, 18 e 21 dias de exposição.

Nos testes de toxicidade com *P. stratiotes* foram utilizados indivíduos que apresentaram massa entre 8 e 10g. Os testes em triplicata foram montados em recipientes plásticos com 2 litros de capacidade e em cada recipiente foram colocados 2 indivíduos em 1 litro de solução nutritiva, cuja composição é apresentada na Tabela 4.1. A solução nutritiva dos recipientes foi completada diariamente para compensar as perdas por transpiração, amostragem e evaporação (ODJEGBA; FASIDI, 2004).

Tabela 4.1. Composição da solução nutritiva utilizada nos testes de toxicidade com *P. stratiotes* (ODJEGBA; FASIDI, 2004).

Micronutrientes	Concentração (mM)	Macronutrientes	Concentração (mM)
H ₃ BO ₃	0,05	KNO ₃	1,50
MnCl ₂ .4H ₂	0,01	Ca(N	1,25
ZnSO ₄ .7H ₂	0,70	KH ₂ P	0,50
CuSO ₄ .5H ₂	0,30	MgSO	0,50
Na ₂ MoO ₂₄ .	0,20		
NaFeEDTA	0,50		

4.3. Bioacumulação de metais

No final do ensaio, em cada tempo de exposição, as plantas foram lavadas com água destilada e secas, separadas em raiz e parte aérea e pesadas para obtenção da massa fresca e mantidas a 70 °C por dois dias ou até peso constante, para determinação da massa seca. Posteriormente as amostras secas de raiz e folha de *P. stratiotes* foram digeridas na com HNO₃ 8M em béqueres tampados com vidro de relógio. Após a digestão, as amostras foram ressuspendidas e diluídas em HNO₃ diluído (APHA, 1995). A digestão foi acompanhada dos brancos e a perda de metal foi avaliada através de ensaios de recuperação do metal, nas mesmas condições utilizadas para os experimentos. As análises do Cr foram realizadas em espectrometria de absorção atômica (AAS) em chama ou com atomização eletrotérmica em forno de grafite (GFAAS), e espectrometria de massa, no laboratório de limnologia do Núcleo de Estudos e Ecossistemas Aquáticos – (NEEA).

4.4. Teor de pigmentos

Foram retiradas duas amostras com cerca de 10 g de cada indivíduo, que foram usadas para a estimativa da clorofila *a* e *b*. O conteúdo de clorofila nas folhas (10 mg) da macrófita, controle e tratadas, foi extraído com acetona e estimado pela metodologia proposta por Porra et al. (1989) através de análise espectrofotométrica. As análises foram realizadas em todos os tempos de exposição ao tratamento.

4.5. Parâmetros de crescimento

Foram avaliados o diâmetro da planta, a massa fresca e a massa seca e o número de folhas após cada tempo de exposição. Os dados da massa seca (P₂) e massa

fresca (P_1) foram utilizados para cálculo da taxa de crescimento relativo (TCR) entre o período inicial (t_1) e final (t_2), segundo Causton (1994), conforme abaixo:

$$TCR = \frac{\ln P_2 \times \ln P_1}{t_2 - t_1}$$

Onde :

TRC = Taxa de crescimento relativo;

P_1 = Peso fresco da planta no tempo t_1 ;

P_2 = Peso fresco da planta no tempo t_2 ;

t_1 e t_2 = Tempo de experimento.

4.6. Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e análise de variância multivariada (MANOVA). Primeiramente foi verificada a homogeneidade das variâncias, posteriormente os dados foram transformados e os resíduos foram analisados quanto à normalidade. As análises foram feitas no STATISTICA 7.0.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. Diâmetro

Durante experimento foram medidos os diâmetros das plantas com 5, 7, 15, 18 e 21 dias de experimento, para que fossem verificados efeitos tóxicos do cromo no crescimento das plantas. Na Tabela 5.1 são apresentados os valores médios do diâmetro nas diferentes concentrações testadas.

Tabela 5.1 Diâmetro médio das plantas de *P. stratiotes* após 21 dias de exposição a diferentes concentrações de cromo.

Concentração de Cromo (mg L ⁻¹)	Diâmetro médio (cm)					
	Início	5 dias	7 dias	15 dias	18 dias	21 dias
Controle	4,8	4,4	4,5	5,0	5,1	5,2
1,0	5,2	4,6	4,6	4,7	4,9	5,0
1,7	4,9	4,5	4,3	5,0	4,8	4,5
3,5	5,2	4,4	4,3	4,6	4,3	4,4
5,3	5,3	4,4	4,3	4,1	4,0	4,0
6,0	5,2	4,2	4,0	4,4	4,6	4,4

Foi observado que houve diminuição do diâmetro médio nos cinco primeiros dias em todos os experimentos, inclusive no controle, o que pode ser explicado pela mudança do local e da solução onde eram cultivadas as plantas. Após o quinto dia

percebe-se uma recuperação das plantas, porém essa recuperação não foi igual para todas as concentrações. As plantas que foram submetidas às concentrações mais elevadas de Cr (5,3 e 6,0 mg L⁻¹) ainda apresentaram diminuição do diâmetro no sétimo dia, enquanto as que tinham concentrações menores mantiveram o diâmetro ou aumentaram. Após o sétimo dia todos os valores de diâmetro médios aumentaram com exceção dos experimentos com concentração de 5,3 mg de Cr L⁻¹. Após 21 dias de experimentos todos os diâmetros médios foram menores do que no início do experimento, com exceção do controle, evidenciando os efeitos do cromo sobre o crescimento das plantas. De acordo com os dados apresentados pode-se sugerir que há uma influência da concentração de metal no diâmetro médio das plantas.

Contrariamente aos nossos resultados, Masutti (2004) realizou testes com *P. stratiotes* submetidas a 1,0 e 10,0 mg Cr L⁻¹, e nos testes com as concentrações mais altas, observou-se aumento no diâmetro médio das plantas em todas as concentrações de Cr testadas.

Masutti et al. (2006) trabalhando com *P. stratiotes* submetidas a 10,0; 50,0 e 100,0 mg Cr L⁻¹, avaliou o desenvolvimento de folhas e raízes, os quais foram os melhores indicadores de efeito para os contaminantes estudados. Os valores médios de CE₅₀ de Cr variaram entre 30,5 e 36,5 mg/L, valores esses, que são maiores que os valores tóxicos para *P. stratiotes* reportados por Orme e Kegley (2004), variando de 1 a 20 mg/L, com base em efeitos bioquímicos, histológicos e mortalidade.

5.2. Número de folhas

Durante o experimento foi contado o número de folhas de cada planta com 5, 7, 15, 18 e 21 dias de experimento e com os dados obtidos foram calculados o número médio de folhas para cada experimento.

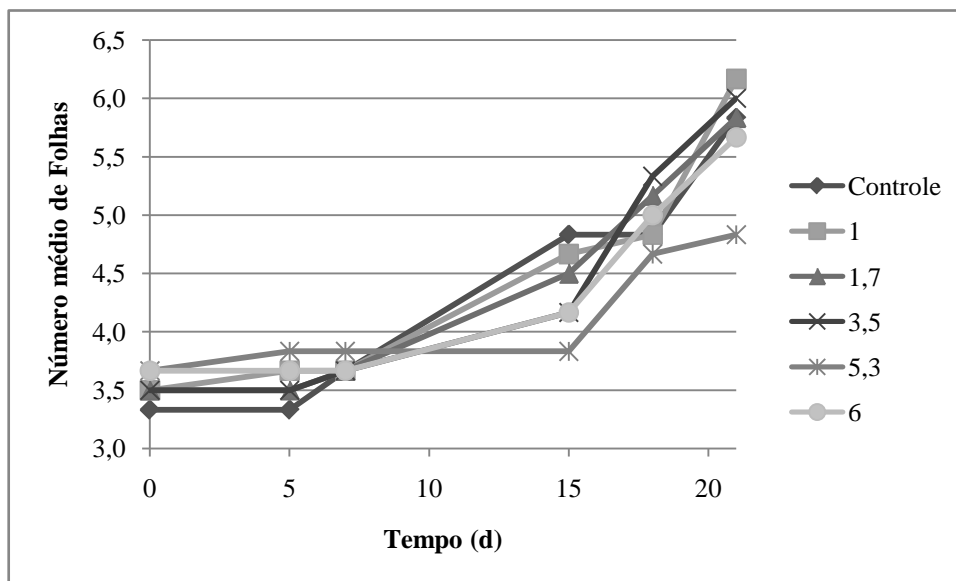


Figura 5.1 Variação temporal no número de folhas em *P. stratiotes* após 21 dias de exposição a diferentes concentrações de cromo.

No presente estudo, assim como nos estudos realizados por Masutti (2004) o número médio de folhas aumentou, porém não apresentou diferenças significativas entre as diferentes concentrações de cromo como pode ser observado na Figura 5.1. O número de folhas parece não ser um bom parâmetro para demonstrar os efeitos do cromo sobre *P. stratiotes*, assim como havia sugerido Masutti et al. (2006), isso pode ser devido ao número de folhas de cada planta variar muito pouco durante o experimento.

5.3. Taxa de Crescimento Relativo

Durante o experimento foram obtidas as massas fresca com 5, 7, 15, 18 e 21 dias de exposição às diferentes concentrações do metal e a massa seca ao final do experimento, os quais subsidiaram os cálculos da taxa de crescimento relativo (Figura 5.2).

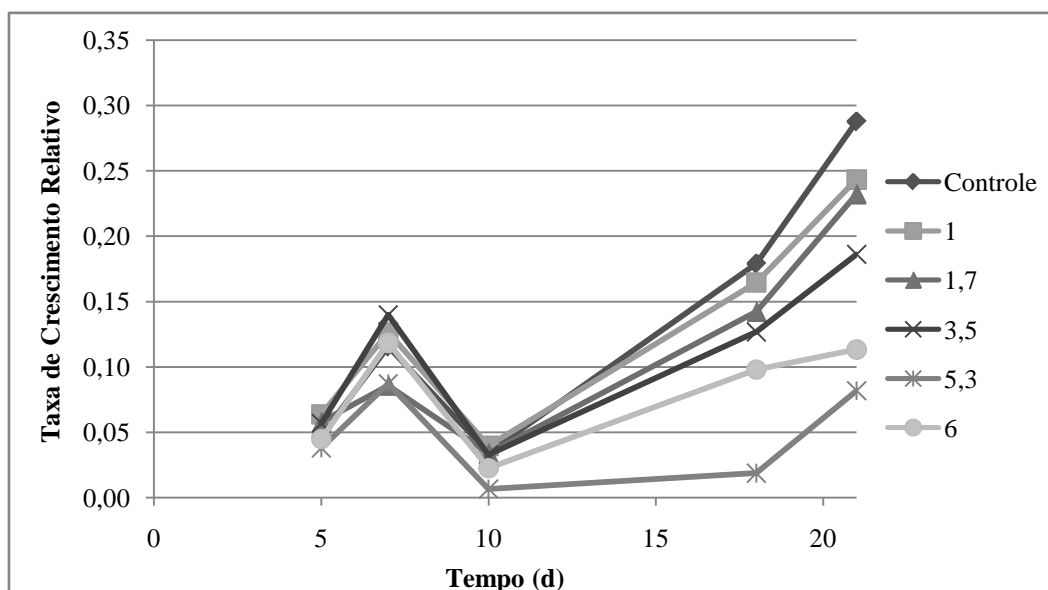


Figura 5.2. Taxa de crescimento relativo de *P. stratiotes* após 21 dias de exposição a diferentes concentrações de cromo.

Assim como o relatado por Odjegba e Fasidi (2004), a taxa de crescimento relativo foi afetada pela presença do metal, havendo uma relação inversa entre a taxa de crescimento relativo da planta e as concentrações de cromo do tratamento aos quais as plantas foram submetidas. Pode-se observar na Figura 5.2 que a taxa de crescimento relativo foi em geral menor para as concentrações maiores e que a partir da concentração $3,5 \text{ mg L}^{-1}$ essa diminuição é mais evidente. Isso ocorreu provavelmente devido a um acúmulo maior de metal nessas plantas, inibindo o seu crescimento em relação às plantas que estavam sendo cultivadas em soluções com menor concentração de metal.

5.4. Teor de pigmentos

Após os 21 dias de experimento foram retiradas amostras das folhas das plantas que foram utilizadas para estimar o teor de clorofila *a*, clorofila *b* e clorofila

total. Os resultados são apresentados na Figura 5.3 e as equações referentes à análise de regressão dos dados são apresentadas na Tabela 5.2.

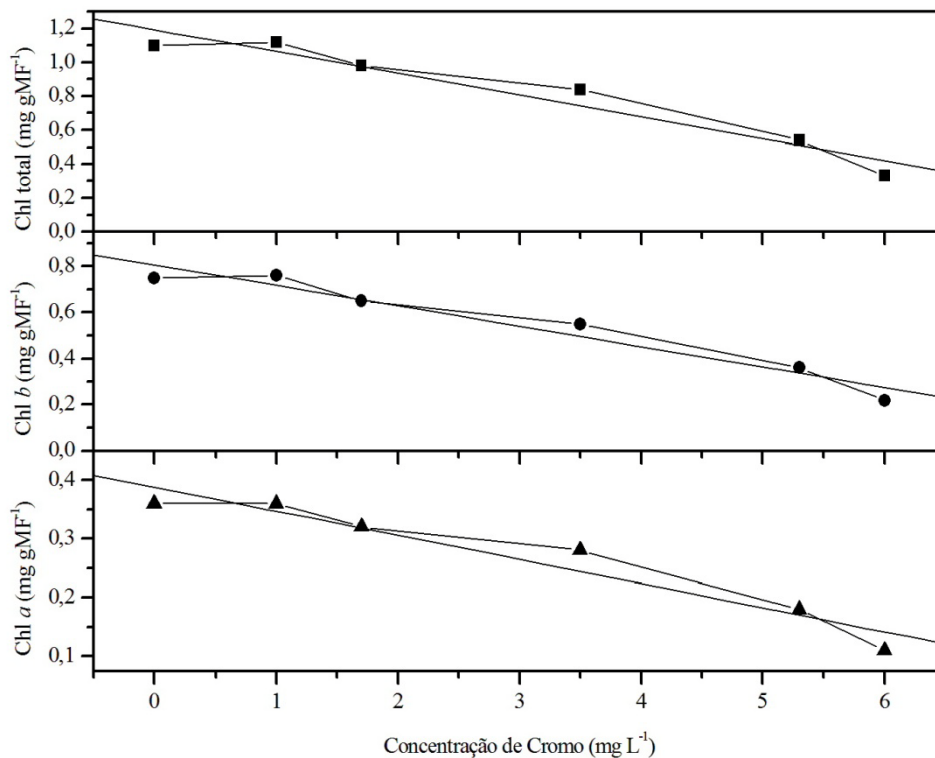


Figura 5.3. Estimativa do teor de clorofila (Chl) *a*, *b* e total em *P. stratiotes*, após 21 dias de exposição a diferentes concentrações de cromo.

Os dados do conteúdo de clorofila foram transformados em \ln (logaritmo neperiano) e analisados por MANOVA (Análise de variância multivariada) em nível de 1% de probabilidade. Os dados analisados revelaram que houve diferença significativa entre os valores com intervalo de confiança de 99%.

Tabela 5.2. Equações das análises de regressão da estimativa do teor de clorofila em *P. stratiotes*, após 21 dias de exposição a diferentes concentrações de cromo.

Pigmento	Equação de Regressão	Coefficiente de regressão
Clorofila <i>a</i>	$y = 0,388x - 0,041$	$R^2 = 0,968$
Clorofila <i>b</i>	$y = 0,806x - 0,088$	$R^2 = 0,976$
Clorofila total	$y = 1,193x - 0,129$	$R^2 = 0,969$

Pode-se observar que nas concentrações de 1,7 a 6,0 mgCr L⁻¹ verifica-se diminuição do conteúdo de clorofila *a*, *b* e total em *P. stratiotes*. Somente na concentração de 1,0 mgCr L⁻¹ de cromo não foi possível observar variações no teor de clorofilas, mostrando que nesta concentração, o cromo não afetou o teor dos pigmentos clorofilianos.

Houve diferença significativa em pelo menos dois tratamentos em nível de 99% de probabilidade, e para identificar entre quais tratamentos estava a diferença significativa, o teste exato de Fisher foi realizado. Este teste demonstrou que houve diferença estatística significativa entre: (1) o controle e os tratamentos de 5,3 e 6,0 mgCr L⁻¹; (2) o tratamento de 1,7 com os tratamentos de 5,3 e 6,0 mgCr L⁻¹; (3) o tratamento de 3,5 mgCr L⁻¹ com o tratamento de 6,0 mgCr L⁻¹; (4) o tratamento de 5,3 com o controle, e com os tratamentos de 1,0; 1,7; 6,0 ($\alpha = 1\%$) e com o tratamento de 3,5 a nível de 5% de probabilidade; (5) o tratamento de 6,0 mgCr L⁻¹ com todos os outros tratamentos e inclusive o controle; e por último (6) o tratamento de 1,0 mgCr L⁻¹ com os tratamentos de 5,3 e 6,0 mgCr L⁻¹.

Vajpayee et al. (2000), estudaram os efeitos das concentrações de 1, 10, 20, 40, 100 e 200 mg de Cr (VI) sob 4, 6 e 12 dias de exposição ao metal sobre o teor de clorofila nas folhas de *Nymphaea alba* L. Os autores relataram que houve uma diminuição do teor de clorofila em todas as concentrações testadas em relação ao

controle. A referida diminuição foi maior nos teores de clorofila *a* do que nos teores de clorofila *b*, chegando a 81,25 % de redução da clorofila *a*, e 61,43 % para a clorofila *b*.

No presente estudo, assim como nos estudos realizados por Vajpayee et al (2000) foram observadas diminuições significativas dos teores de clorofila em relação ao controle, porém não foram observadas diferenças significantes entre a diminuição relativa de clorofila *a* e de clorofila *b*.

5.5.Aspectos relacionados a biorremediação

Após os 21 dias de experimento foram medidas as concentrações de cromo nas raízes e nas partes aéreas das plantas. Os valores obtidos em cada uma das partes são apresentadas na Figura 5.4.

No presente trabalho, em geral, observou-se que a concentração de cromo foi maior nas plantas expostas a maiores concentrações de cromo, porém, assim como o observado por Ganesh et al. (2008), esse aumento não foi linear. As raízes apresentaram concentração significativamente maior que as encontradas nas partes aéreas. Enquanto na parte aérea os maiores valores encontrados estão na faixa de 0,05 mg g MS⁻¹, nas raízes foram encontrados valores superiores a 0,25 mg g MS⁻¹. Esses resultados estão de acordo com o que foi relatado por Ganesh et al (2008).

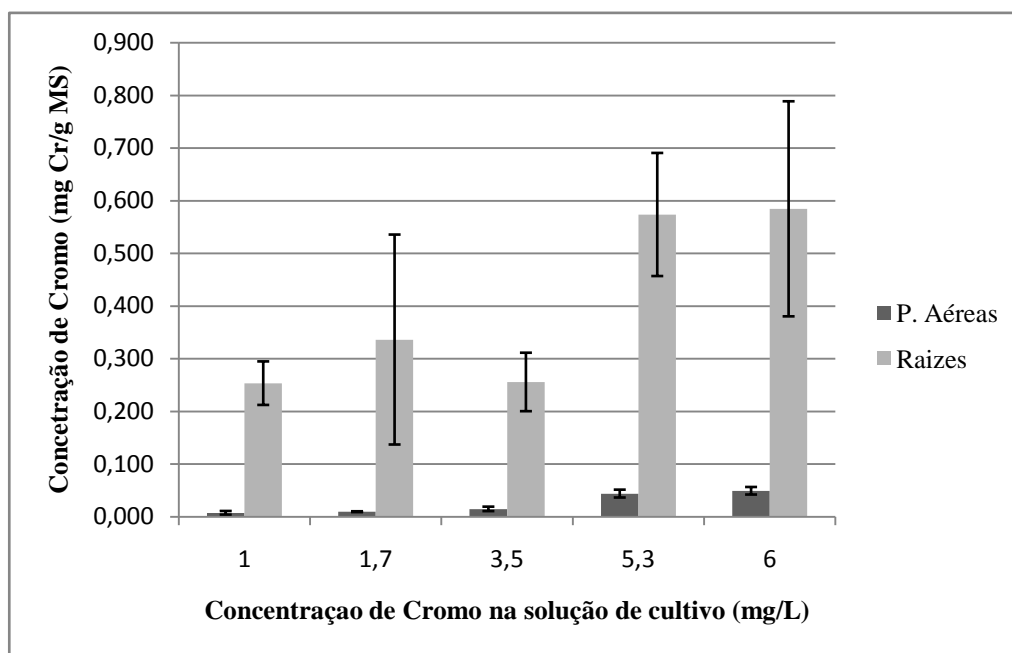


Figura 5.4 – Concentração de cromo nas raízes e partes aéreas de *P. stratiotes*, após 21 dias de exposição a diferentes concentrações de cromo.

Ganesh et al (2008) realizaram experimentos com *P. stratiotes* que foram submetidas a concentrações de 5, 10, 25, 50, 100 e 200 mg L⁻¹ de cromo durante 7 dias. Os autores observaram que a concentração de cromo foi significativamente maior nas plantas expostas a concentrações maiores de cromo, observando-se que o aumento não foi linear ao aumento da disponibilidade de cromo. Outro aspecto importante observado foi que a concentração de cromo nas raízes foi maior que a concentração nas partes aéreas.

Paiva et al. (2009) utilizando *Eichornia crassipes* e Sinha et al. (2009) com *P. stratiotes* demonstraram uma maior concentração de cromo nas raízes do que na parte aérea. Diferentes mecanismos são propostos para explicar o gradiente de concentração de metal entre raiz e parte aérea nas plantas expostas ao cromo, principalmente em plantas hiperacumuladoras.

Dentro da perspectiva da fitorremediação, uma planta com boa capacidade de bioacumulação deveria apresentar os seguintes critérios: (1) ser capaz de acumular elevados níveis de metais nos tecidos ou partes coletáveis; (2) ser espécies vegetais de crescimento rápido; (3) possuir um sistema radicular bem desenvolvido (QUIAN et al., 1999). Baseado nestes critérios, *P. stratiotes* poderia ser considerada um bom acumulador da maioria dos metais em concentrações traço por se tratar de uma planta aquática flutuante, que poderia ser completamente colhida, apresentar um bom sistema radicular e por possuir uma taxa de crescimento rápido (ODJEGBA; FASIDI, 2004).

Além dos critérios apresentados, a quantidade de cromo presente nas plantas (raízes e partes aéreas) chegou a $0,633 \text{ mg g MS}^{-1}$, resultados que denotam a capacidade de *P. stratiotes* bioacumular este metal, conferindo potencial para ser utilizada como organismo fitorremediador em águas contaminadas por cromo.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os estudos da análise de crescimento realizado com *P. stratiotes* submetidas a diferentes concentrações de cromo em vários tempos de exposição revelaram reduções no diâmetro médio das plantas, principalmente nas exposições a concentrações mais altas (5,3 e 6,0 mg Cr L⁻¹). Também foram observadas reduções nas taxas de crescimento relativo, sendo que a concentração de 5,3 mg Cr L⁻¹ afetou o crescimento de forma mais intensa do que a concentração mais elevada (6,0 mg Cr L⁻¹).

De uma maneira geral, os parâmetros de crescimento não apresentaram diferenças significativas. O número médio de folhas aumentou, corroborando com outros estudos realizados em condições semelhantes, mas não representou parâmetros desejáveis (ou *endpoints*) para avaliações nos testes de toxicidade, já a taxa de crescimento relativo apresentou resultados que podem ser utilizados como parâmetros indicadores da contaminação de por cromo.

Por outro lado, as reduções no teor de pigmentos clorofilianos (clorofila *a* e *b*) foram significativas, sendo a clorofila *a* mais afetada do que a clorofila *b*, resultados que corroboram com dados recentes da literatura.

A bioacumulação foi diferencial, ou seja, houve maior acúmulo de cromo na raiz do que na parte aérea, e as diferenças foram significativas.

A espécie *P. stratiotes* e os parâmetros avaliados nos testes de toxicidade (teor de pigmentos e bioacumulação de metais) associados às características desta planta aquática, permitem recomendar seu uso como organismo teste e como organismo acumulador de cromo e sistemas de fitorremediação.

7. REFERÊNCIAS

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. American Water Work Association: Water Pollution Control Federation. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 19th ed. Washington DC, 1268 p., 1995.

AZEVEDO, F. A.; CHASIN, A. A. M. (Coord.). (2003). As bases toxicológicas da ecotoxicologia. São Carlos: Rima. 2003. 322 p.

CAUSTON, D. R. (1994). Plant growth analysis: a note on the variability of unit leaf rate (net assimilation rate) within a sample. *Annals of Botany*, v. 74, n. 5, p. 513–518, Nov.

COBBETT, C.S; GOLDSBROUGH, P. Phytochelantins and metallothioneins: roles in heavy metal detoxification and homeostasis, *Annual Review Plant Biology*, v. 53p. 159-182, 2002.

DE VOS, C. R. H.; SCHAT, H.; DE WALL, M. A. M.; VOOIJIS, R. ERNST, W. H. (1991). Increased resistance to cooper-induced damage of the root cell plasmalemma in cooper tolerant *Silene cucubalus*. *Physiol. Plant.* v. 82 p. 523-528.

DORNFELD, C. B. (2002). “Utilização de análises limnológicas, bioensaios de toxicidade e macroinvertebrados bentônicos para o diagnóstico ambiental do reservatório de Salto Grande (Americana, SP).” São Carlos, Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.

ESTEVEZ, F. A. (1988). Fundamentos de Limnologia. FINEP. Ed. Interciência. Rio de Janeiro.

FONSECA, A. L.(1991). A biologia das espécies *Daphnia leaves*, *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) e *Poecillia reticulata* (Pisces, Poecillidae) e o comportamento deste em testes de toxicidade aquática com efluentes industriais. São Carlos, Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.

FREEDMAN, B. (1995). Environmental ecology – The ecological effects of pollution, disturbance and other stresses. Chapter 3, p. 62-93. 2 ed. Academic Press. San Diego.

GANESH, K. B.; BASKARAN, L.; RAJASEKARAM, S, SUMATHI, K.; CHINDAMBARAM, A. L. A.; SUNDARAMOORTHY, P.(2008). Chromium stress induced alterations in biochemical and enzyme metabolism in aquatic and terrestrial plants. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces* v. 63, p 159-163.

GRATÃO, P. L. (2003) Análise da resposta antioxidativa de células de *Nicotiana tabacum* cv BY-2 submetidas ao cádmio. Piracicaba, Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

GUSMÃO, L. F. M. (2004). Efeitos do cobre e cromo na comunidade zooplanctônica: Um Estudo experimental em mesocosmos. São Carlos, Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.

HO, Y.; PORTER, J.; MCKAY, G. (2002). Equilibrium isotherm studies for the sorption of divalent metal ions onto peat: cooper, nickel and lead single component systems. *Water Air Soil Pollut.* V. 141, p. 1-33.

KAEWSARN, P. (2002). Biosorption of copper (II) from aqueous solutions by pre-treated biomass of marine algae *Padina sp.* *Chemosphere.* v. 47, p.1081-1085.

KEFALA, M.I.; ZOUBOULIS, A.I.; MATIS, K.A. Biosorption of cadmium ions by Actinomycetes and separation by flotation. *Environmental Pollution*, v.104, p 283-293, 1999.

KLUMPP, A.; BAUER, K.; FRANZ-GERSTEIN, C.; MENEZES, M. (2002). Variation of nutrient and metal concentrations in aquatic macrophytes along the Rio Cachoeira in Bahia (Brazil). *Environmental International*, v. 28 p. 165-171.

KNIE, J. L. W.; LOPES, E. W. B. Testes ecotoxicológicos: métodos, técnicas e aplicações. Florianópolis: FATMA / GTZ, p. 289, 2004.

KNOX, J. P.; DODGE, A. D. (1985) Singlet oxygen and plants. *Phytochemistry*, v. 24, p. 889-896.

LAMEIRA, V. (2008). Estudos dos efeitos letais e subletais (Reprodução e teratogêneses) do fármaco Triclosan para *Daphnia similis*, *Ceriodaphnia dubia*, *Ceriodaphnia silvestrii* (Cladocera, Crustacea). São Paulo, Dissertação (Mestrado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Autarquia Associada à Universidade de São Paulo.

MAINE, A. M.; SUÑÉ, L. N; LAGGER, C. S. (2004). Chromium bioaccumulation: comparison of the capacity of two floating aquatic macrophytes. *Water Res.*, v. 38 p.1494-1501.

MALAVOLTA, E. Fertilizantes e seu impacto ambiental: micronutrientes e metais pesados, mitos, mistificação e fatos. São Paulo: Prodquímica, 1994. 153 p.

MARCOLAN, L. N. O. (2009). Investigação hidrogeoquímica do cromo no aquífero Adamantina no município de Urânia – SP. São Paulo, Dissertação (Mestrado) – Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo.

MASUTTI, M. B. 2004. Distribuição e efeitos de cromo e cobre em ecossistemas aquáticos: uma análise laboratorial e in “situ” (experimento em micro e mesocosmos). 2004. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.

MASUTTI, M. B.; ESPINDOLA, E. L. G.; NOGUEIRA, A. M.; SIMOES, F. C. F. (2006) Sensibilidade a cobre e cromo por *Oreochromis niloticus* e *Pistia stratiotes*. *Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology* v.1, n.1, p.37-42, 2006

MATTIAZZO-PREZOTTO, M. E. (1994). Comportamento de cobre, cádmio, cromo, níquel e zinco adicionados a solos de clima tropical em diferentes valores de pH. Piracicaba, Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

MELO, L.C; DOS SANTOS, J. B; RAMALHO,M.A.P. Choice of parents to obtain common bean (*phaseos vulgaris*) cultivars tolerant to low temperatures at the adult stage. *Brazilian Journal of Genethics*, v.20, n.2, p.283-292, 1997.

MIRETZKY, P.; SARALEGUI, A.; CIRELLI, A. F. (2006). Simultaneous heavy metal removal mechanism by dead macrophytes. *Chemosphere*. v. 62, p. 247-254.

NIGAM, K. D. P.; SRIVASTAV, R. K.; GUPTA, S. K. e VASUDEVAM, P. (1998). A mathematical model for metal ions uptake by aquatic plants for waste water treatment. *Environmental Modeling and Assessment*., v. 3 p. 258-299.

NOGUEIRA NETO, A. C. (2009). Avaliação de toxicidade aguda e crônica em águas do Rio Jundiaí e em afluentes e efluentes da ETE Novo Horizonte, Jundiaí, São Paulo. São Paulo, Dissertação (Mestrado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares.

OCHIAI, E. I (1995). Toxicity of heavy metals and biological defense. Principles and applications in bioinorganic chemistry – VII. *Jornal of Chemical Education*, v. 72, n. 6, p. 479-483.

ODJEGBA, V. J. e FASIDI, I. O. (2004). Accumulation of trace elements by *Pistia stratiotes*: Implications for phytoremediation. *Ecotoxicology*, v. 13, p. 637-646.

ORME, S.; KEGLEY, S., 2004, PAN Pesticide Database. Pesticide Action Network, North America (San Francisco, CA. 2004). Disponível em: <http://www.pesticideinfo.org>.

PADMAJA, K.; PRASAD, D. D. K.; PRASAD, A. K. R. (1990). Inhibition of chlorophyll synthesis in *Phaseolus vulgaris* L. seedlings by cadmium acetate. *Photosynthetica*, v. 24, p. 399-405.

PAIVA, L. B.; OLIVEIRA, J. B.; AZEVEDO, R. A.; RIBEIRO, D. R.; SILVA, M. G.; VITÓRIA, A. P. (2009). Ecophysiological responses of water hyacinth exposed to Cr^{+3} e Cr^{+6} . *Environmental Experimental Botany*, v. 65: p. 403-409.

PINTO, E.; SIGAUD-KUTNER, T. C. S.; LEITÃO, M. A. S.; OKAMOTO, O. K.; MORSE, D.; COLEPICOLO, P. (2003). Heavy metal-induced oxidative stress in algae. *J Phycol.*, v. 39 p. 1008-1018.

PORRA, R. J.; THOMPSON, W. A.; KRIEDEMANN, P. E. Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochim. Biophys. Acta*, v. 975, p. 384-394, 1989.

QUIAN, J. H.; ZAYED, A.; ZHU, Y. L.; YU, M.; TERRY, N. Phytoaccumulation of trace elements by wetlands plants: iii. Uptake and accumulation of ten trace elements by twelve plant species. *J. Environ. Qual.*, v. 28, p. 1448-1455, 1999.

RAY L. B., L. CHONG D., GOUGH N. R., Computational Biology. *Sci. STKE* 2002, eg10, 2002

RAVEN, J. A.; EVANS, M. C. W.; KORB, R. E. (1999). The role of trace metals in photosynthetic electron transport in O₂-evolving organisms. *Photosynth. Res.*, v 60 p. 111-149.

SALT, D. E.; SMITH, R.D.; RASKIN, I. Phytoremediation. *Annual Review of Plant Physiology. Plant Molecular Biology*, v. 49, p.643-668, 1998

SANITÀ DI TOPPI, L. et al. Different compensatory mechanisms in two metal-accumulating aquatic macrophytes exposed to acute cadmium stress in outdoor artificial lakes. *Chemosphere*, v. 68, p. 769-780, 2007.

SCHRÖDER, P. Phytoremediation. *J. Soils Sedim.*, v. 3, n. 4, 228, 2003.

SCHÜTZENDUBEL, A.; SCHWANZ, P.; TEICHMANN, T.; GROSS, K.; LANGEFELD-HEYSER, R.; GODBOLD, D.L.; POLLE, A. Cadmium toxicity and oxidative metabolism of pea peroxisomes. *Free Rad. Res.*, v.31, p.25-31, 1999.

SHAH, K.; NONGKYNRIH, J. M. Metal hyperaccumulation and bioremediation. *Biol. Plant.*, v. 51, p. 618-634, 2007.

SINHA, S.; SAXENA, R.; SINGH, S. Comparative studies on accumulation of Cr from metal solution and tannery effluent under repeated metal exposure by aquatic plants: its toxic effects. *Environ. Monit. Assess.*, v. 80, p. 17-31, 2002.

SINHA, S.; SAXENA, R.; SINGH, S. Chromium induced lipid peroxidation in the plants of *Pistia stratiotes* L.: role of antioxidants and antioxidants enzymes. *Chemosphere*, v. 58, n. 5, p. 595-604, 2005.

SINGH, O. V.; LABANA, S.; PANDEY, G.; BUDHIRAJA, R.; JAIN, R. K. Phytoremediation: an overview of metallicion decontamination from soil. *Appl. Micribiol. Biotechnol.*, v. 61, p. 405-412, 2003.

SUÑE, N.; SÁNCHEZ, G.; CAFFARATTI, S.; MAINE, M. A. (2006). Cadmium and chromium removal kinetcs from solution by two aquatic macrophytes. *Environmental Pollution.*, v. 145. p. 467-773.

TARLYN, N. M. Axenic cultures of *Pistia stratiotes* for use in plant biochemical studies. *Aquatic Botany*, v. 60, p. 161-168, 1998.

TERREL, D. (2007). Avaliação da qualidade da água subterrânea em área de mineração de caulim: impactos e perspectivas de remediação, município de Mogi das Cruzes, SP. São Paulo, Dissertação (Mestrado) – Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo.

VARDANYAN, L. G.; INGOLE, B. S. (2006). Studies on heavy metal accumulation in aquatic macrophytes from Sevan (Armenia) and Carambolim (India) lake systems. *Environmental International*. v. 32, p. 208-218.

VASUDEVAN, P.; PADMAVATHY, V.; TEWARI, N.; DHINGRA, S. (2001). Biosorption of heavy metal ions. *J. Sci. Ind. Res.* v. 60, p. 112-120.

VEGLIO, F.; BEOLCHINI, F. Removal of metal by biosorption: a review. *Hydrometallurgy*, v.44, p.301-316, 1997.

APÊNDICE A PARÂMETROS DE CRESCIMENTO

Tabela A.1. Diâmetros das plantas obtidos durante o experimento e utilizados para o cálculo dos diâmetros médios.

Experimento	Diâmetro (cm)					
	0 dias	5 dias	7 dias	15 dias	18 dias	21 dias
Controle R*1P**1	3,6	3,6	4,2	5,2	4,6	4,4
Controle R*1P**2	5,0	4,9	5,1	5,5	5,9	6,1
Controle R*2P**1	5,3	3,7	4,0	4,5	4,6	3,9
Controle R*2P**2	4,6	3,9	4,1	4,0	5,4	5,3
Controle R*3P**1	4,1	4,8	4,7	5,2	5,0	5,5
Controle R*3P**2	6,3	5,6	4,9	5,8	5,3	6,1
1,0 R*1P**1	4,8	4,2	4,4	4,6	4,5	4,5
1,0 R*1P**2	5,4	5,2	5,3	5,2	4,6	5,0
1,0 R*2P**1	3,6	3,8	3,7	4,2	3,9	4,0
1,0 R*2P**2	6,9	5,3	5,3	5,2	5,6	5,8
1,0 R*3P**1	6,2	5,5	4,2	4,7	4,9	4,8
1,0 R*3P**2	4,5	3,4	4,7	4,5	5,7	5,6
1,7 R*1P**1	4,7	4,1	4,3	4,6	4,4	4,3
1,7 R*1P**2	5,9	4,6	4,5	6,2	4,9	4,6
1,7 R*2P**1	3,7	3,9	3,4	4,6	4,1	4,0
1,7 R*2P**2	6,9	5,2	4,5	4,6	4,6	4,3
1,7 R*3P**1	4,4	5,0	4,0	4,5	4,3	4,0
1,7 R*3P**2	4,0	4,2	4,9	5,5	6,3	5,6
3,5 R*1P**1	4,2	3,9	3,5	4,3	4,2	4,6
3,5 R*1P**2	5,4	5,2	5,5	5,6	5,2	4,9
3,5 R*2P**1	5,7	4,2	4,3	4,5	4,1	4,3
3,5 R*2P**2	5,1	4,6	4,3	4,0	3,9	4,0
3,5 R*3P**1	5,3	3,9	3,7	4,2	3,8	4,1
3,5 R*3P**2	5,6	4,8	4,3	4,8	4,7	4,6
5,3 R*1P**1	4,2	2,9	3,0	3,3	3,7	3,8
5,3 R*1P**2	5,5	5,0	4,8	4,5	3,3	4,2
5,3 R*2P**1	4,2	3,4	2,9			
5,3 R*2P**2	5,7	4,9	4,4	4,0	3,6	4,0
5,3 R*3P**1	5,0	3,8	3,7	4,0	3,9	3,6
5,3 R*3P**2	5,9	5,3	5,5	4,9	5,3	4,5
6,0 R*1P**1	5,1	3,8	3,3	3,8	4,2	4,1
6,0 R*1P**2	5,0	4,3	4,3	4,6	4,5	4,2
6,0 R*2P**1	5,6	4,4	4,1	4,2	4,1	4,3
6,0 R*2P**2	5,2	4,1	3,8	4,3	4,2	3,8
6,0 R*3P**1	5,1	4,1	3,8	4,7	5,0	4,8
6,0 R*3P**2	4,9	4,2	4,6	4,8	5,6	5,3

* recipiente; **planta

Tabela A.2. Número de folhas em cada planta obtido durante o experimento e utilizado para o cálculo dos número médio de folhas das plantas.

Experimento	Número de folhas					
	0 dias	5 dias	7 dias	15 dias	18 dias	21 dias
Controle R [*] 1 P ^{**} 1	3	3	3	5	4	5
Controle R [*] 1 P ^{**} 2	3	3	4	5	5	6
Controle R [*] 2 P ^{**} 1	4	4	3	4	4	5
Controle R [*] 2 P ^{**} 2	3	3	4	5	6	7
Controle R [*] 3 P ^{**} 1	3	3	3	4	4	5
Controle R [*] 3 P ^{**} 2	4	4	5	6	6	7
1,0 R [*] 1 P ^{**} 1	3	3	3	5	4	6
1,0 R [*] 1 P ^{**} 2	4	4	4	5	5	6
1,0 R [*] 2 P ^{**} 1	3	3	3	4	4	6
1,0 R [*] 2 P ^{**} 2	4	5	5	6	6	7
1,0 R [*] 3 P ^{**} 1	4	4	3	4	5	6
1,0 R [*] 3 P ^{**} 2	3	3	4	4	5	6
1,7 R [*] 1 P ^{**} 1	3	3	3	4	4	5
1,7 R [*] 1 P ^{**} 2	4	4	4	4	5	6
1,7 R [*] 2 P ^{**} 1	3	3	4	5	5	6
1,7 R [*] 2 P ^{**} 2	4	4	4	5	6	7
1,7 R [*] 3 P ^{**} 1	4	4	3	4	5	5
1,7 R [*] 3 P ^{**} 2	3	3	4	5	6	6
3,5 R [*] 1 P ^{**} 1	3	3	3	3	4	6
3,5 R [*] 1 P ^{**} 2	4	4	4	6	6	7
3,5 R [*] 2 P ^{**} 1	3	3	3	3	5	5
3,5 R [*] 2 P ^{**} 2	4	4	5	5	6	7
3,5 R [*] 3 P ^{**} 1	3	3	3	3	5	5
3,5 R [*] 3 P ^{**} 2	4	4	4	5	6	6
5,3 R [*] 1 P ^{**} 1	3	3	3	4	5	5
5,3 R [*] 1 P ^{**} 2	4	4	4	5	5	6
5,3 R [*] 2 P ^{**} 1	3	3	3	0	2	2
5,3 R [*] 2 P ^{**} 2	4	4	4	4	5	6
5,3 R [*] 3 P ^{**} 1	4	4	4	4	5	6
5,3 R [*] 3 P ^{**} 2	4	5	5	6	6	4
6,0 R [*] 1 P ^{**} 1	3	3	3	3	4	5
6,0 R [*] 1 P ^{**} 2	4	4	4	4	5	6
6,0 R [*] 2 P ^{**} 1	3	3	3	4	4	6
6,0 R [*] 2 P ^{**} 2	4	4	4	4	5	5
6,0 R [*] 3 P ^{**} 1	4	4	4	5	6	6
6,0 R [*] 3 P ^{**} 2	4	4	4	5	6	6

* recipiente; **planta

Tabela A.3. Valores das massas das plantas obtidos durante o experimento e utilizados para o cálculo das massas médias das plantas.

Experimento	Massa (g)					
	0 dias	5 dias	7 dias	15 dias	18 dias	21 dias
Controle R* 1 P** 1	0,72	0,80	0,84	1,12	1,23	1,33
Controle R* 1 P** 2	1,85	1,85	1,93	2,63	2,84	3,12
Controle R* 2 P** 1	1,29	1,24	0,88	1,12	1,14	1,08
Controle R* 2 P** 2	0,78	0,85	1,28	1,69	1,82	1,75
Controle R* 3 P** 1	1,14	1,38	1,47	1,89	1,95	1,81
Controle R* 3 P** 2	2,47	2,52	2,61	3,16	3,48	3,24
1,0 R* 1 P** 1	0,80	0,91	0,91	1,11	1,19	1,11
1,0 R* 1 P** 2	2,25	2,18	2,27	2,52	2,62	2,42
1,0 R* 2 P** 1	0,76	0,82	0,91	0,94	1,02	0,97
1,0 R* 2 P** 2	2,35	2,57	2,60	2,99	3,37	3,09
1,0 R* 3 P** 1	1,90	1,85	1,01	1,13	1,17	1,05
1,0 R* 3 P** 2	0,95	0,92	2,00	2,3	2,34	2,21
1,7 R* 1 P** 1	0,82	0,83	0,84	1,13	1,17	1,16
1,7 R* 1 P** 2	1,60	1,59	1,67	1,91	2,04	2,11
1,7 R* 2 P** 1	0,59	0,61	0,62	0,74	0,76	0,8
1,7 R* 2 P** 2	1,90	1,82	1,82	2,18	2,33	2,38
1,7 R* 3 P** 1	2,47	2,55	1,12	1,34	1,44	1,44
1,7 R* 3 P** 2	0,98	1,06	2,72	2,96	3,11	3,15
3,5 R* 1 P** 1	0,91	0,92	0,88	0,97	1	0,99
3,5 R* 1 P** 2	2,51	2,42	2,47	2,81	2,87	2,83
3,5 R* 2 P** 1	1,25	1,18	1,17	1,32	1,3	1,2
3,5 R* 2 P** 2	1,87	1,72	1,80	1,88	1,88	1,81
3,5 R* 3 P** 1	0,94	1,00	1,03	1,16	1,13	1,13
3,5 R* 3 P** 2	2,05	2,03	2,10	2,28	2,35	2,27
5,3 R* 1 P** 1	1,00	1,05	1,08	1,13	1,13	1,09
5,3 R* 1 P** 2	1,36	1,22	1,27	1,33	1,28	1,16
5,3 R* 2 P** 1	0,90	0,98	0,84		0,56	0,51
5,3 R* 2 P** 2	1,41	1,43	1,42	1,52	1,43	1,39
5,3 R* 3 P** 1	1,11	1,09	1,13	1,14	1,2	1,13
5,3 R* 3 P** 2	2,52	2,27	2,31	2,38	2,39	2,24
6,0 R* 1 P** 1	1,01	1,03	1,10	1,13	1,08	1,03
6,0 R* 1 P** 2	1,67	1,60	1,74	1,81	1,59	1,52
6,0 R* 2 P** 1	1,19	1,15	1,21	1,26	1,26	0,84
6,0 R* 2 P** 2	1,06	1,01	1,03	0,95	0,9	1,18
6,0 R* 3 P** 1	1,09	1,06	1,05	1,13	1,1	0,94
6,0 R* 3 P** 2	3,20	3,06	3,38	3,33	3,29	3,03

* recipiente; **planta

Tabela A.4. Taxa de crescimento relativo

Experimento	Taxa de crescimento relativo				
	5 dias	7 dias	15 dias	18 dias	21 dias
Controle	0,05	0,12	0,03	0,18	0,29
1,0	0,06	0,13	0,04	0,16	0,24
1,7	0,06	0,09	0,03	0,14	0,23
3,5	0,06	0,14	0,03	0,13	0,19
5,3	0,04	0,09	0,01	0,02	0,08
6,0	0,04	0,12	0,02	0,10	0,11

APÊNDICE B TEOR DE PIGMENTOS

Tabela B.1. Teor de pigmentos

Experimento			Clorofila a (mg/g MF)	Clorofila b (mg/g MF)	Clorofila a+b (mg/g MF)
controle	R*1P**1	A	0,4146	0,948	1,363
controle	R*1P**1	B	0,3338	0,707	1,041
controle	R*1P**2	A	0,3102	0,604	0,915
controle	R*1P**2	B	0,3089	0,647	0,956
controle	R*2P**1	A	0,4142	0,844	1,259
controle	R*2P**1	B	0,4632	0,880	1,343
controle	R*2P**2	A	0,3738	0,745	1,119
controle	R*2P**2	B	0,3916	0,824	1,216
controle	R*3P**1	A	0,3310	0,749	1,081
controle	R*3P**1	B	0,3511	0,680	1,032
controle	R*3P**2	A	0,2842	0,653	0,937
controle	R*3P**2	B	0,2957	0,690	0,986
1,0	R*1P**1	A	0,2426	0,619	0,862
1,0	R*1P**1	B	0,4271	0,859	1,286
1,0	R*1P**2	A	0,4205	0,842	1,262
1,0	R*1P**2	B	0,4359	0,927	1,363
1,0	R*2P**1	A	0,3303	0,625	0,955
1,0	R*2P**1	B	0,3627	0,769	1,132
1,0	R*2P**2	A	0,3308	0,757	1,088
1,0	R*2P**2	B	0,3910	0,797	1,188
1,0	R*3P**1	A	0,2556	0,562	0,818
1,0	R*3P**1	B	0,3744	0,911	1,285
1,0	R*3P**2	A	0,3533	0,778	1,131
1,0	R*3P**2	B	0,3640	0,712	1,076
1,7	R*1P**1	A	0,2509	0,535	0,785
1,7	R*1P**1	B	0,2393	0,520	0,759
1,7	R*1P**2	A	0,4510	0,972	1,423
1,7	R*1P**2	B	0,3740	0,714	1,088
1,7	R*2P**1	A	0,2574	0,506	0,764
1,7	R*2P**1	B	0,2971	0,629	0,927
1,7	R*2P**2	A	0,1831	0,369	0,552
1,7	R*2P**2	B	0,3705	0,756	1,126
1,7	R*3P**1	A	0,3232	0,633	0,956
1,7	R*3P**1	B	0,3776	0,863	1,241
1,7	R*3P**2	A	0,3806	0,724	1,105
1,7	R*3P**2	B	0,3369	0,637	0,974
3,5	R*1P**1	A	0,2512	0,461	0,712
3,5	R*1P**1	B	0,3819	0,736	1,118
3,5	R*1P**2	A	0,2902	0,600	0,890
3,5	R*1P**2	B	0,4337	0,873	1,306
3,5	R*2P**1	A	0,2900	0,557	0,847

3,5	R*2P**1	B	0,3265	0,655	0,982
3,5	R*2P**2	A	0,2179	0,414	0,632
3,5	R*2P**2	B	0,3420	0,679	1,021
3,5	R*3P**1	A	0,2278	0,423	0,651
3,5	R*3P**1	B	0,2265	0,458	0,684
3,5	R*3P**2	A	0,2030	0,370	0,573
3,5	R*3P**2	B	0,2194	0,403	0,622
5,3	R*1P**1	A	0,2848	0,536	0,821
5,3	R*1P**1	B	0,2353	0,481	0,716
5,3	R*1P**2	A	0,1576	0,357	0,515
5,3	R*1P**2	B	0,3288	0,610	0,939
5,3	R*2P**2	A	0,1256	0,274	0,400
5,3	R*2P**2	B	0,1673	0,425	0,593
5,3	R*3P**1	A	0,2033	0,405	0,608
5,3	R*3P**1	B	0,0423	0,088	0,130
5,3	R*3P**2	A	0,1747	0,335	0,510
5,3	R*3P**2	B	0,0680	0,126	0,194
6,0	R*1P**1	A	0,1189	0,227	0,346
6,0	R*1P**1	B	0,0148	0,029	0,044
6,0	R*1P**2	A	0,1521	0,335	0,487
6,0	R*1P**2	B	0,0204	0,039	0,059
6,0	R*2P**1	A	0,1325	0,265	0,397
6,0	R*2P**2	A	0,1585	0,303	0,461
6,0	R*2P**2	B	0,0114	0,025	0,036
6,0	R*3P**1	A	0,2225	0,491	0,714
6,0	R*3P**1	B	0,0276	0,057	0,085
6,0	R*3P**2	A	0,1427	0,263	0,405
6,0	R*3P**2	B	0,1923	0,352	0,544

* recipiente; **planta

APÊNDICE C CONCENTRAÇÃO DE CROMO

Tabela C.1. Concentração de cromo nas folhas das plantas obtidas no final do experimento.

Experimento	Massa seca (g.L-1)	Cromo ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	mg Cr. g MS ⁻¹
Controle R*1P**1	0,695	0,09	0,000
Controle R*1P**2	1,623	0,24	0,000
Controle R*2P**1	0,725	0,00	0,000
Controle R*2P**2	0,86	0,43	0,001
Controle R*3P**1	0,991	0,21	0,000
Controle R*3P**2	1,833	0,31	0,000
1,0 R*1P**1	0,63	5,38	0,009
1,0 R*1P**2	1,641	10,32	0,006
1,0 R*2P**1	0,723	9,56	0,013
1,0 R*2P**2	1,941	5,48	0,003
1,0 R*3P**1	0,673	5,02	0,007
1,0 R*3P**2	1,581	8,11	0,005
1,7 R*1P**1	0,76	7,22	0,010
1,7 R*1P**2	1,446	13,00	0,009
1,7 R*2P**1	0,485	5,25	0,011
1,7 R*2P**2	1,479	13,76	0,009
1,7 R*3P**1	0,95	8,09	0,009
1,7 R*3P**2	2,069	174,55	0,009
3,5 R*1P**1	0,641	9,46	0,015
3,5 R*1P**2	2,155	29,35	0,014
3,5 R*2P**1	0,829	18,09	0,022
3,5 R*2P**2	1,287	19,24	0,015
3,5 R*3P**1	0,842	67,11	0,015
3,5 R*3P**2	1,768	15,19	0,009
5,3 R*1P**1	0,923	16,31	0,044
5,3 R*1P**2	0,742	36,42	0,049
5,3 R*2P**1	0,418	41,72	0,045
5,3 R*2P**2	0,882	47,36	0,054
5,3 R*3P**1	0,867	32,24	0,037
5,3 R*3P**2	1,734	58,08	0,033
6,0 R*1P**1	0,686	36,81	0,054
6,0 R*1P**2	0,955	41,84	0,044
6,0 R*2P**1	0,401	46,16	0,049
6,0 R*2P**2	0,757	41,03	0,054
6,0 R*3P**1	0,597	33,58	0,056
6,0 R*3P**2	2,037	76,62	0,038

* recipiente; **planta

Tabela C.2. Concentração de cromo nas raízes das plantas obtidas no final do experimento.

Experimento	Massa seca (g.L⁻¹)	Cromo (µg.L⁻¹)	mg Cr. g MS⁻¹
concentração (mg Cr. L⁻¹)			
Controle R [*] 1 P ^{**} 1	0,207	0,00	0,00
Controle R [*] 1 P ^{**} 2	0,413	0,00	0,00
Controle R [*] 2 P ^{**} 1	0,159	0,00	0,00
Controle R [*] 2 P ^{**} 2	0,303	0,00	0,00
Controle R [*] 3 P ^{**} 1	0,354	0,00	0,00
Controle R [*] 3 P ^{**} 2	0,573	0,00	0,00
1,0 R [*] 1 P ^{**} 1	0,152	35,50	0,234
1,0 R [*] 1 P ^{**} 2	0,387	105,39	0,272
1,0 R [*] 2 P ^{**} 1	0,134	74,16***	0,252
1,0 R [*] 2 P ^{**} 2	0,512	96,98	0,189
1,0 R [*] 3 P ^{**} 1	0,149	46,75	0,314
1,0 R [*] 3 P ^{**} 2	0,332	86,18	0,260
1,7 R [*] 1 P ^{**} 1	0,147	76,58	0,521
1,7 R [*] 1 P ^{**} 2	0,255	29,98	0,118
1,7 R [*] 2 P ^{**} 1	0,097	49,57	0,511
1,7 R [*] 2 P ^{**} 2	0,29	58,71	0,202
1,7 R [*] 3 P ^{**} 1	0,18	93,07	0,517
1,7 R [*] 3 P ^{**} 2	0,416	61,58***	0,148
3,5 R [*] 1 P ^{**} 1	0,155	51,13	0,330
3,5 R [*] 1 P ^{**} 2	0,366	69,19	0,189
3,5 R [*] 2 P ^{**} 1	0,174	38,30	0,220
3,5 R [*] 2 P ^{**} 2	0,298	92,54	0,311
3,5 R [*] 3 P ^{**} 1	0,136	121,95	0,262
3,5 R [*] 3 P ^{**} 2	0,336	74,62***	0,222
5,3 R [*] 1 P ^{**} 1	0,11	100,95	0,574
5,3 R [*] 1 P ^{**} 2	0,229	161,41	0,705
5,3 R [*] 2 P ^{**} 1	0,058	86,63	0,631
5,3 R [*] 2 P ^{**} 2	0,188	100,54	0,535
5,3 R [*] 3 P ^{**} 1	0,153	56,05	0,366
5,3 R [*] 3 P ^{**} 2	0,357	225,18	0,631
6,0 R [*] 1 P ^{**} 1	0,13	109,60	0,843
6,0 R [*] 1 P ^{**} 2	0,284	106,74	0,376
6,0 R [*] 2 P ^{**} 1	0,107	71,28	0,666
6,0 R [*] 2 P ^{**} 2	0,142	96,20	0,677
6,0 R [*] 3 P ^{**} 1	0,109	283,56	0,641
6,0 R [*] 3 P ^{**} 2	0,441	133,48***	0,303

* recipiente; **planta; *** valor médio