



MESTRADO EM ENGENHARIA AMBIENTAL

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AMBIENTAL

DISSERTAÇÃO

MACRÓFITAS AQUÁTICAS EM
TRATAMENTO DE ÁGUAS CONTAMINADAS
POR ARSÊNIO.

EDILAYNE CRISTINA SANTOS

OURO PRETO – MG – BRASIL

2008

EDILAYNE CRISTINA SANTOS

MACRÓFITAS AQUÁTICAS EM TRATAMENTO DE ÁGUAS CONTAMINADAS POR
ARSÊNIO.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Ouro Preto, como partes dos requisitos necessários para a obtenção do título: “Mestre em Engenharia Ambiental - Área de Concentração: Saneamento Ambiental”

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Vera Lúcia de Miranda Guarda
Co-orientador: Prof. Dr. José Fernando Paiva

Ouro Preto, MG

2008

S237m

Santos, Edilayne Cristina.

Macrófitas aquáticas em tratamento de águas contaminadas por arsênio
[manuscrito] / Edilayne Cristina Santos - 2008.
xii, 71f. : il., color; graf.; tabs. ; mapas.

Orientador: Profa. Dra. Vera Lúcia de Miranda Guarda.

Co-orientador: Prof. Dr. José Fernando Paiva.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Ouro Preto.
Instituto de Ciências Exatas e Biológicas. Mestrado em Engenharia
Ambiental.

Área de concentração: Saneamento Ambiental.

1. Saneamento - Teses. 2. Água – Estações de Tratamento - Teses.
3. Água - Purificação - Teses. 4. Macrófitas – teses. I. Universidade Federal
de Ouro Preto. II. Título.

CDU: 628.16

Catálogo: sisbin@sisbin.ufop.br



UFOP

Universidade Federal
de Ouro Preto

Ministério da Educação
Universidade Federal de Ouro Preto
Programa de Mestrado em Engenharia Ambiental
ICEB - Campus – Morro do Cruzeiro
Ouro Preto – MG – CEP 35.400-000
Fone: (031)3559-1725
E-mail: proagua@iceb.ufop.br

*“Macrófitas Aquáticas em Tratamento de Águas Contaminadas por
Arsênio”*

Autora: Edilayne Cristina dos Santos

Dissertação defendida e aprovada, em 26 de setembro de 2008, pela banca examinadora
constituída pelos professores:

Professora Dr^a. Vera Lúcia de Miranda Guarda- Orientadora
Universidade Federal de Ouro Preto

Professor Dr. Caetano Marciano de Souza
Universidade Federal de Viçosa

Professora Dr^a. Mônica Cristina Teixeira
Universidade Federal de Ouro Preto

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela oportunidade de estar aqui.

Aos meus pais Joel e Imaculada, pela dedicação e carinho que sempre tiveram.

À Universidade Federal de Ouro Preto, pela oportunidade de realização do curso de graduação e do mestrado.

A Escola de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto pelo suporte dado na realização dos experimentos.

Ao Instituto Estadual de Florestas- IEF pela autorização de coleta das macrófitas *Mayaca e Salvinia auriculata* nas reservas ecológicas do Tripuí e do Parque Estadual do Itacolomy

A minha orientadora Prof^a Dr^a Vera Lúcia de Miranda Guarda por acreditar em minha capacidade, pela paciência e dedicação.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. José Fernando Paiva pela oportunidade e dedicação.

Ao Prof. Dr. Herminio Arias Nalini Junior do Departamento de Geologia - Escola de Minas Universidade Federal de Ouro Preto pelo suporte dado na realização das análises de absorção e na digestão das macrófitas.

Aos professores Sidney Augusto Vieira Filho (Bibo) e Mauro Schettino da Universidade Federal de Ouro Preto pelo fornecimento das macrófitas *Lemna minuta e Spirodela intermedia* e pelas idéias.

A professora Maria Claudia Feres Monteiro de Castro – DEMAT- Universidade Federal de Ouro Preto pela colaboração nas análises estatísticas.

Aos professores. Rosane e Juraci, da Universidade Federal de Viçosa pelo suporte científico e metodológico.

A pesquisadora da Embrapa Vali Joana Pott, pela identificação das macrófitas.

As minhas bolsistas Priscila Mayrink e Marcela Menezes pela colaboração nos experimentos.

Ao meu colega de mestrado César Versiane, pela colaboração no suporte metodológico no cultivo das macrófitas.

Ao Sr. José Maria Marcelino, técnico do Laboratório de Química farmacêutica da Universidade Federal de Ouro Preto, pela colaboração e amizade.

Ao Celso, e a Margarete do Laboratório de Geoquímica Ambiental da Universidade Federal de Ouro Preto, pelo suporte dado na realização das análises de absorção e na digestão das macrófitas.

A minha irmã Josilayne, pelo incentivo e carinho.

À vó Adonira pelo exemplo de vida e compreensão.

Aos meus demais familiares, pelo incentivo, compreensão, força e por sempre acreditarem na minha capacidade.

Ao Mukesh, pelo incentivo e por estar sempre ao meu lado.

A República Anonimato, pela acolhida, carinho, compreensão, dedicação e pelo amor incondicional.

Aos amigos de Escola Estadual Padre Afonso de Lemos, onde trabalho, pela compreensão, força e incentivo, especialmente a Jaqueline, Maria Alice, Lurdes e Carlos.

Aos meus grandes amigos: Cíntia, Tatiana, Renata, Dalila, Vanessa, Thalita, Janaina, Tamires, Roberta, Thiago, Cristilene, Ana Marcelina, amos vocês.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho, e que acreditaram em mim: muito obrigada!

INDICE

FICHA CATALOGRÁFICA-----	i
FOLHA DE APROVAÇÃO-----	ii
AGRADECIMENTOS-----	ii
ÍNDICE-----	iv
LISTA DE FIGURAS-----	vi
LISTA DE TABELAS-----	vii
RESUMO-----	viii
ABSTRACT-----	ix
CAPÍTULO 1. INTRODUÇÃO GERAL-----	1
CAPÍTULO 2-----	3
2.1 - OBJETIVOS GERAIS -----	3
2.2 - OBJETIVOS ESPECÍFICOS-----	3
CAPÍTULO 3. REVISÃO DE LITERATURA. -----	4
3.1. Importância da água-----	4
3.2. A utilização de plantas aquáticas na recuperação de recursos hídricos degradados - -----	5
3.3. Macrófitas aquáticas-----	7
3.4. Macrófitas aquáticas empregadas na remoção de metais pesados em tratamento de água -----	11
3.5. Caracterização das macrófitas aquáticas utilizadas no estudo-----	13
3.5.1. Importância da família Lemnaceae-----	13
3.5.2. Importância da família Salvinaceae-----	16
3.5.3. Importância da família Mayacaceae-----	17
3.6. Acumulação de metais pesados e do metalóide arsênio-----	18
CAPÍTULO 4. PARTE EXPERIMENTAL-----	21
4.1. Obtenção das macrófitas aquáticas-----	21
4.2. Adaptação das macrófitas aquáticas no laboratório-----	21
4.3. Avaliação do crescimento-----	21
4.4. Exposição das plantas ao arsênio -----	22
4.5. Determinação do teor de arsênio-----	23

4.6. Análise estatística dos dados-----	24
CAPÍTULO 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO-----	25
5.1. Avaliação do crescimento de plantas-----	25
5.2. Caracterização das culturas expostas ao arsênio-----	30
5.2.1. Cultura de <i>Spirodela intermedia</i> em pH 5,5-----	30
5.2.2. Cultura de <i>Spirodela intermedia</i> em pH 7,0-----	31
5.2.3. Cultura de <i>Lemna minuta</i> em pH 7,0-----	33
5.2.4. Cultura de <i>Lemna minuta</i> em pH 5,5-----	34
5.3. Influência do arsênio na crescimento das macrófitas-----	35
5.4. Avaliação da absorção de arsênio pelas macrófitas-----	38
5.4.1. Absorção de arsênio em pH 7,0-----	38
5.4.2. Absorção de arsênio em pH 5,5-----	40
5.4.3. Influência do pH na absorção de arsênio pela <i>Spirodela intermedia</i> -----	42
5.4.4. Influência do pH na absorção de arsênio pela <i>Lemna minuta</i> -----	43
5.4.5. Teor de arsênio na biomassa-----	45
CAPITULO 6. CONCLUSÕES-----	48
CAPÍTULO 7: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS-----	49
CAPITULO 8: ANEXOS-----	62
ANEXO 1: Materiais e Metodos -----	62
ANEXO 2: Análise estatística da exposição das macrófitas em solução de Arsênio--	66

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1: Distribuição dos Recursos Hídricos no Planeta -----	5
Figura 3.2: Classificação das macrófitas aquáticas segundo Pedralli-----	8
Figura 3.3: Esquema de <i>Lemna sp.</i> , onde R = raiz, Fo = fronde mãe, F1 = fronde filha da primeira geração, F2 = fronde filha da segunda geração-----	13
Figura 3.4: Alta produtividade de <i>Lemna sp</i> em um lago da América do Sul-----	14
Figura 3.5: Foto mostrando alta produtividade de <i>Spirodela intermedia</i> em um lago de Khajuraho- Índia – Janeiro/2008-----	15
Figura 3.6: Espécies de macrófitas do Brasil. <i>Lemna minuta</i> e <i>Salvinia natans</i> -----	16
Figura 5.1: Avaliação do crescimento do peso seco de <i>Spirodela intermedia</i> -----	25
Figura 5.2: Avaliação do crescimento do peso fresco de <i>Spirodela intermedia</i> -----	25
Figura 5.3: Avaliação do crescimento do peso seco de <i>Lemna minuta</i> -----	26
Figura 5.4: Avaliação do crescimento do peso fresco de <i>Lemna minuta</i> -----	26
Figura 5.5: Avaliação do crescimento do peso seco da Mayaca-----	27
Figura 5.6: Avaliação do crescimento do peso fresco da Mayaca-----	27
Figura 5.7: Avaliação do crescimento do peso seco da <i>Salvinia auriculata</i> -----	28
Figura 5.8: Avaliação do crescimento do peso fresco da <i>Salvinia auriculata</i> -----	28
Figura 5.9: Comparação do crescimento das espécies de macrófitas do estudo (peso fresco)-----	29
Figura 5.10: Cultura de <i>Spirodela intermedia</i> em pH 5,5 Controle – na ausência de arsênio A-B-C -Culturas em presença de arsênio-----	30
Figura 5.11: <i>Spirodela intermedia</i> após retirada da solução-----	31
Figura 5.12: Cultura de <i>Spirodela intermedia</i> em pH 7,0 Controle – na ausência de arsênio A-B-C -Culturas em presença de arsênio-----	32
Figura 5.13: <i>Spirodela intermedia</i> depois de retirada da solução em pH 7,0-----	32
Figura 5.14: Cultura de <i>Lemna minuta</i> em pH 7,0 Controle – na ausência de arsênio A-B-C -Culturas em presença de arsênio-----	33
Figura 5.15: Culturas de <i>Lemna minuta</i> , após colheita no pH 7,0-----	33
Figura 5.16: Cultura de <i>Lemna minuta</i> em pH 5,5: Controle – cultura na ausência de arsênio e A-B Culturas em presença de arsênio-----	34

Figura 5.17: Crescimento da <i>Spirodela intermedia</i> em presença de arsênio em pH 7,0-----	35
Figura 5.18: Crescimento da <i>Lemna minuta</i> em presença de arsênio em pH 7,0-----	35
Figura 5.19: Crescimento da <i>Spirodela intermedia</i> em presença de arsênio em pH 5,5-----	36
Figura 5.20: Crescimento da <i>Lemna minuta</i> em presença de arsênio em pH 5,5-----	36
Figura 5.21: Absorção de arsênio por <i>Spirodela intermedia</i> em pH 7,0-----	38
Figura 5.22: Absorção de arsênio por <i>Lemna minuta</i> em pH 7,0-----	39
Figura 5.23: Absorção de arsênio por <i>Spirodela intermedia</i> em pH 5,5-----	40
Figura 5.24: Absorção de arsênio por <i>Lemna minuta</i> em pH 5,5-----	41
Figura 5.25: Comparação da media da absorção da <i>Spirodela intermedia</i> em pH 5,5 e pH 7,0 - -----	42
Figura 5.26: Comparação da media da absorção da <i>Lemna minuta</i> em pH 5,5 e pH 7,0-----	43
Figura 8.1: Estufa de crescimento e sistema de aeração das macrófitas-----	62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Comparação da quantidade de arsênio na solução e biomassa-----	45
Tabela 2: Preparo de solução nutritiva-----	64
Tabela 3: Preparo da solução estoque (volume de 100 mL)-----	64
Tabela 4: Micronutrientes-----	64
Tabela 5: Volume retirado da solução estoque para o preparo de 1 L da solução nutritiva, com 1/5 da força iônica-----	65
Tabela 6: Análise estatística da absorção de arsênio por <i>Spirodela intermedia</i> em pH 7,0-----	66
Tabela 7: Análise estatística da absorção de arsênio por <i>Lemna minuta</i> em pH 7,0-----	67
Tabela 8: Análise estatística da absorção de arsênio por <i>Spirodela intermedia</i> em pH 5,5-----	68
Tabela 9: Análise estatística da absorção de arsênio por <i>Lemna minuta</i> em pH 5,5-----	69
Tabela 10: Análise estatística da comparação da media da absorção da <i>Spirodela intermedia</i> em pH 5,5 e pH 7,0-----	70
Tabela 11: Análise estatística da comparação da media da absorção da <i>Lemna minuta</i> em pH 5,5 e pH 7,0-----	71
Tabela 12: : Comparação dos teores de arsênio na solução e na biomassa -----	45

RESUMO

A poluição das águas por arsênio, e compostos: orgânicos, fosfatados e nitrogenados é um dos maiores problemas do mundo moderno. A fitorremediação tem sido utilizada, na busca de espécies vegetais com potencial para a remoção desses compostos.

Nesse intuito, espécies de macrófitas foram colocadas em presença de arsênio em meio aquoso nutritivo, a fim de estudar a absorção do arsênio pelas mesmas e a sua cinética.

A análise do crescimento e da produção de biomassa, em curto intervalo de tempo, (10 dias), foi realizada para quatro espécies de macrófitas em solução Hoagland (1/5 força iônica): *Spirodela intermedia*, *Lemna minuta*, *Salvinia auriculata* e *Mayacacia*. As duas primeiras espécies foram selecionadas por apresentarem melhores curvas de crescimento.

Em estufa com luminosidade e temperatura controladas, cinco gramas de massa fresca por unidade amostral das espécies *Spirodela intermedia* e *Lemna minuta*, foram cultivadas em potes de plásticos não transparentes em solução de Hoagland, na presença de arsênio na concentração $1,5 \text{ mg/L}^{-1}$, e em dois pH diferentes: 5,5 e 7,0. Paralelamente, um cultivo controle na ausência de arsênio e nos mesmos pH foi realizado.

Alíquotas de 2 mL foram retiradas periodicamente de cada vaso em tempos pré estabelecidos. O teor de arsênio foi analisado nas alíquotas e nas plantas após digestão, utilizando Voltametria de Onda Quadrada sobre eletrodo de Mercúrio.

Observou-se que a macrófita *Spirodela intermedia* em pH 7,0 obteve maior absorção de arsênio.

ABSTRACT

The pollution of waters for arsenic, and composites: organic, fosfatados and nitrogenados is one of the biggest problems of the modern world. The fitorremediação has been used, in the search of vegetal species with potential for the removal of these composites.

In this intention, species of macrófitas had been placed in presence of Arsenio in nutritional watery way, in order to study the absorption of the Arsenio for same and its kinetic one.

The analysis of the growth and the production of biomass, in short interval of time, (10 days), was carried through for four species of macrófitas in Hoagland solution (1/5 force iônica): *Spirodela intermedia*, *Lemna minuta*, *Salvinia auriculata* and Mayacacia. The two first species had been selected by had presented better arches of growth

In greenhouse with controlled luminosity and temperature, five gram of cool mass for amostral unit of the species *Spirodela intermedia* and *Lemna minuta*, had been cultivated in not transparent plastic pots in solution of Hoagland, na presença of Arsenio in the different concentration $1,5 \text{ mg/L}^{-1}$, and in two pH: 5,5 and 7,0. The culture in the Arsenio absence was carried through in parallel, in same pH.

Aliquot of 2 mL had been removed periodically of each vase in established times daily pay.

The Arsenio text was analyzed in aliquot and the plants the after digestion, using Voltametria de Square shaped Onda on Mercury electrode. It was observed that the species *Spirodela intermedia* in pH 7,0 presented a bigger absorption of Arsênio.

CAPITULO 1

INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil é um país rico em recursos hídricos, dispondo de aproximadamente 15% de toda a água doce existente no mundo, ou seja, dos 113 trilhões de m³ disponíveis para a vida terrestre, 17 trilhões estão no Brasil, e estes estão sofrendo degradações pela população brasileira. (Maia Neto, 1997)

O desenvolvimento dos recursos hídricos e a conservação dos sistemas naturais é um desafio à sociedade brasileira e passa por vários aspectos, relacionados com as condições sócio-econômicas, a grande extensão territorial e a população, na sua maioria urbana (próximo de 80%). (Paz, et al, 2000)

O consumo humano da água está limitado atualmente pela degradação da qualidade das águas superficiais e subterrâneas, que sofre contaminação pelo esgoto industrial e pelo escoamento pluvial urbano, estes são lançadas nos rios sem tratamento. E esta demanda de consumo está concentrada em grandes áreas urbanas como as regiões metropolitanas.

O governo e as organizações não governamentais (ONGs) de alguma forma tentam minimizar esta situação, construindo Estações de Tratamento de Águas e de Esgoto (Etas e Etes), mas os seus recursos ainda não são suficientes para a construção destes sistemas em todas as cidades do país, devido ao grande crescimento das mesmas.

Os métodos utilizados por estes agentes, muitas das vezes têm custos elevados e também pode causar algum dano ambiental, como deslocamento da matéria contaminada para local distante, provocando riscos de contaminação secundária e aumentando ainda mais os custos do tratamento. Diante desta situação, em anos mais recentes passou-se a dar preferência aos métodos que perturbem menos o ambiente e que sejam mais econômicos.

Dentro desse contexto, a fitorremediação que utiliza sistemas vegetais para recuperar águas e solos contaminados por poluentes orgânicos e inorgânicos, tomou impulso nos últimos dez anos. (Glass, 1998)

Um dos ramos da fitorremediação é a utilização de plantas aquáticas como agente purificador, que deve-se a sua intensa absorção de nutrientes e poluentes. Seu rápido crescimento e a facilidade de sua retirada das lagoas e as amplas possibilidades de utilização da biomassa que pode ser cultivada visando à produção de alimentos quanto para animais quanto para o homem, tomando-se o cuidado com a ingestão destas..

Com isso pesquisadores de todo o mundo estão testando estas técnicas que são mais viáveis para utilizar em tratamento de água, como a bioremediação ou fitoremediação, técnicas que utilizam plantas para retirar os poluentes da água e também do solo.

A tecnologia de fitorremediação pode ser empregada por dois tipos de processos: Pelas células das plantas, que é facilitada por mecanismos que envolvem proteínas transportadoras (Lasat, 2002). Devido à similaridade estrutural entre arseniato e fosfato, o *As* é absorvido pelas plantas pelo mesmo sítio de absorção do fosfato (Graeme e Pollack, 1998; Dembitsky e Rezanka, 2003; Aksorn e Visoottiviseth, 2004; Mkandawire e Dudel, 2005). O transporte é feito com prótons H^+ (Raghothama, 1999; 2000). E pela rizofiltração, que tem estimulado muitos pesquisadores a investigar o potencial de diferentes espécies vegetais aquáticas, na remoção de elementos tóxicos em corpos d'água (Zayed *et al.*, 1998; Qian *et al.*, 1999; Zhu *et al.*, 1999)

O desenvolvimento do presente projeto permitirá a verificação do nível de acumulação do metalóide arsênio, por duas macrófitas da família Lemnaceae, *Lemna minuta* e a *Spirodela intermedia*. Após verificar se as espécies são acumuladoras, verificará qual delas consegue absorver/adsorver mais arsênio da solução. A mesma poderá ser utilizada em tratamento de águas residuárias de empresas de mineração, nas ETAs e ETEs de diversas cidades.

CAPÍTULO 2

OBJETIVOS

2.1 - Objetivo geral:

Realizar um estudo sobre o crescimento rápido de macrófitas e avaliar seu potencial na remoção de arsênio em águas contaminadas.

2.2 - Objetivos específicos:

- Realizar cultivo das mesmas em meio de cultivo (solução de Hoagland e Arnon, 1950, nº.1) e na presença e ausência de arsênio;
- Verificar se as macrófitas são sensíveis, acumuladora ou hiperacumuladora de arsênio.
- Comparar os níveis de absorção/adsorção do arsênio pelas espécies de macrófitas aquáticas avaliadas;
- Verificar o nível de tolerância visual das macrófitas ao metalóide arsênio;
- Verificar qual(is) delas pode(m) ser(em) empregada(s) em fitorremediação.

CAPÍTULO 3

REVISÃO DE LITERATURA

3.1 - IMPORTÂNCIA DA ÁGUA

A extinção das espécies e a perda da biodiversidade, a queda na fertilidade dos solos com a desertificação de extensas áreas da superfície terrestre, a poluição do ar, da água e do solo, a diminuição das fontes de água doce e a alteração climática do planeta são alguns temas recorrentes na atualidade, presentes obrigatoriamente nas discussões sobre o futuro da humanidade.

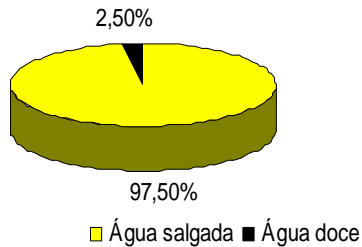
A vida na terra somente foi possível devido à existência de água na forma líquida. As primeiras espécies de vida surgiram na água e dependiam inteiramente dos elementos existentes em seu meio. (Lisboa, et al, 1993). À medida que ocorreu a evolução dos seres vivos, estes adquiriram mecanismos internos que os possibilitaram de não continuar imersos no meio aquoso para viver, embora todos os seres vivos continuassem a manter uma estreita relação com a água, pois, ela constitui cerca de 70% do corpo humano e de 50% a 90% de quase todas as frutas, vegetais e outros alimentos consumidos todos os dias.

Do total de recursos hídricos existentes no planeta, cerca de 97,5% correspondem aos oceanos e mares e 2,5%, isto é, mais ou menos 35 milhões km³, à água doce. A água doce encontra-se assim distribuída: 68,9% sob a forma de gelo e neves eternas; 30,8% no solo e subsolo, sendo 29,9% em reservatórios subterrâneos, 0,9% em situações diversas, como umidade dos solos e pântanos; e 0,3% em rios, lagos e lagoas. (Rekacewiz (2003), Tundisi, (2003). Segundo Rebouças (2001)), a água doce concentrada nas calotas polares e geleiras é de 29 milhões km³; as águas doces subterrâneas correspondem a 10 milhões de km³ e nos rios, lagos e pântanos encontram-se 127 milhões de km³ de água.

Os recursos hídricos superficiais gerados no Brasil representam 50% do total dos recursos da América do Sul e 15% dos recursos mundiais. Apesar da situação aparentemente favorável observa-se, no Brasil, uma enorme desigualdade regional na distribuição dos recursos hídricos (Figura 3.1). Quando se comparam essas situações com a abundância de água da Bacia Amazônica, que corresponde às regiões Norte e Centro-Oeste, contrapondo-se a problemas de escassez no Nordeste e conflitos de uso nas regiões Sul e Sudeste, a situação se agrava. Ao se considerar, em lugar de disponibilidade absoluta de recursos hídricos renováveis, aquela

relativa à população dele dependente, o Brasil deixa de ser o primeiro e passa ao vigésimo terceiro no mundo (Projeto Água, 1998).

Quantidade de água doce e salgada no planeta



Distribuição de água doce(2,5%) no planeta

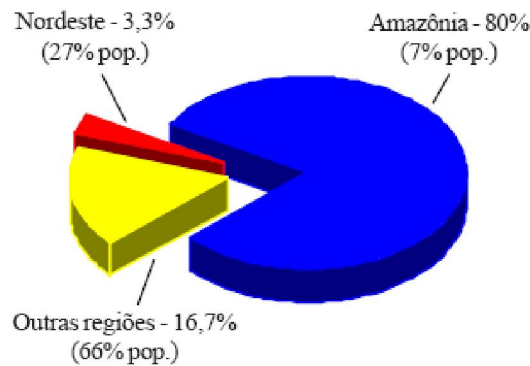
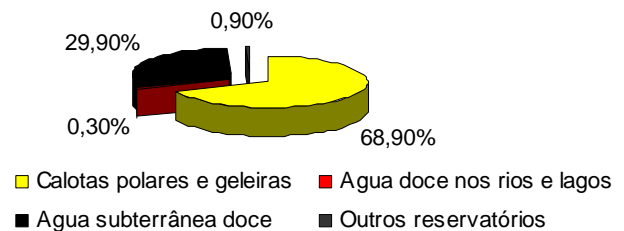


Figura 3.1: Distribuição dos Recursos Hídricos no Planeta (Fonte: Elaboração própria a partir de Diop e Rekecewicz, 2003, Tundise, 2003 e Shiklomanov 1999 apud) e no Brasil (Fonte: Projeto Água (1998))

3.2. A UTILIZAÇÃO DE PLANTAS AQUÁTICAS NA RECUPERAÇÃO DE RECURSOS HÍDRICOS DEGRADADOS.

A água dos rios, lagos e dos oceanos sofrem degradações como poluição e contaminação por efluentes industriais e domésticos. O ser humano tem causado todo este prejuízo à natureza, através dos lixos, esgotos, resíduos químicos industriais e mineração sem controle.

A recuperação dessas águas contaminadas, pelas atividades humanas é feita através de vários métodos bastante dispendiosos. Por isso, recentemente, passou-se a dar preferência aos métodos *in situ* que perturbem menos o ambiente e sejam mais econômicos. Dentro deste contexto, tem-se a fitorremediação, como alternativa capaz de empregar sistemas vegetais

fotossintetizantes e sua microbiota com o fim de desintoxicar águas degradadas ou poluídas. As substâncias alvos da fitorremediação incluem metais (Pb, Zn, Cu, Ni, Hg, Se), compostos inorgânicos (NO_3^- , NH_4^+ , PO_4^{3-}), elementos químicos radioativos (U, Cs, Sr), hidrocarbonetos derivados de petróleo, inseticidas e herbicidas (atrazine, bentazona, compostos clorados e nitroaromáticos), explosivos, solventes clorados e resíduos orgânicos industriais, entre outros. A fitorremediação oferece várias vantagens: É uma tecnologia barata permitindo seu emprego em grandes extensões de área; aplicável a um grande número de poluentes orgânicos e inorgânicos, torna-se ecológica e socialmente satisfatória, e seus procedimentos realizados *in situ* associam-se a tecnologias mais tradicionais. (Cunningham, 1996).

Entretanto, o tempo para se obter resultados satisfatórios pode ser longo. A concentração do poluente e a presença de toxinas devem estar dentro dos limites de tolerância da planta usada para não comprometer o tratamento.

Várias universidades desenvolvem projetos ligados a esta área, como a Universidade da Califórnia e a Universidade de Glasgow. No Brasil, sabe-se que algumas empresas estatais e privadas, bem como instituições acadêmicas (Unicamp, por exemplo) pesquisam e exploram métodos de biorremediação através da fitoremediação.

As macrófitas aquáticas são sensíveis a diversos tipos de alterações no ambiente. A capacidade destas plantas de reter contaminantes possibilita a sua utilização como indicadoras de descargas intermitentes, que não são detectadas em análises químicas de rotina. (Rusanowshi, 1984).

Então, a justificativa para utilização de plantas aquáticas como “agente purificador” em hidroponia, é devido ao fato de serem sensíveis aos agentes poluentes, da sua absorção intensa de nutrientes, pelo seu rápido crescimento, como também por oferecer facilidades de sua retirada das lagoas e ainda pelas amplas possibilidades de aproveitamento da biomassa (Glass, 1998).

3.3 - MACRÓFITAS AQUÁTICAS

Macrófitas aquáticas refere-se a um grupo de plantas que cresce e vive em ambientes aquáticos.

A conceituação de macrófitas aquáticas sempre foi um assunto controverso e variável entre os autores. O termo traqueófitas aquáticos está dentro das denominações mais antigas, que era freqüentemente utilizado pelos botânicos do século passado.

Muitos autores norte-americanos utilizam o termo hidrófito para os vegetais superiores submersos e com folhas flutuantes e heliófitas para os emersos. (Esteves 1998).

Os autores que citaram o termo “Macrófitas aquáticas” pela primeira vez foram Weaver e Clement em 1938, como “plantas herbáceas que crescem na água e em solos cobertos ou saturados com água”. Em 1967, Sculthorpe o modificou, incluindo sob a denominação de Macrófitas aquáticas, diversos grupos taxonômicos, como líquens, algas macroscópicas, plantas vasculares, musgos e vegetais que habitam desde brejos até ambientes verdadeiramente aquáticos.

Na literatura existem vários outros termos que denominam estas plantas como, hidrófilas, helófitas, limnófilas, plantas aquáticas e macrófitas. O termo macrófitas aquáticas é considerado como sendo de uso mais freqüente. (Programa Internacional de Biologia - IBP)

As macrófitas aquáticas são classificadas de acordo com suas formas biológicas podendo ser; *flutuante livre ou fixa (enraizadas)*, *submersa fixa (enraizada)*, *e livre, emergente, anfíbias e epífitas*(Figura 3.2) (Pedralli 1990).

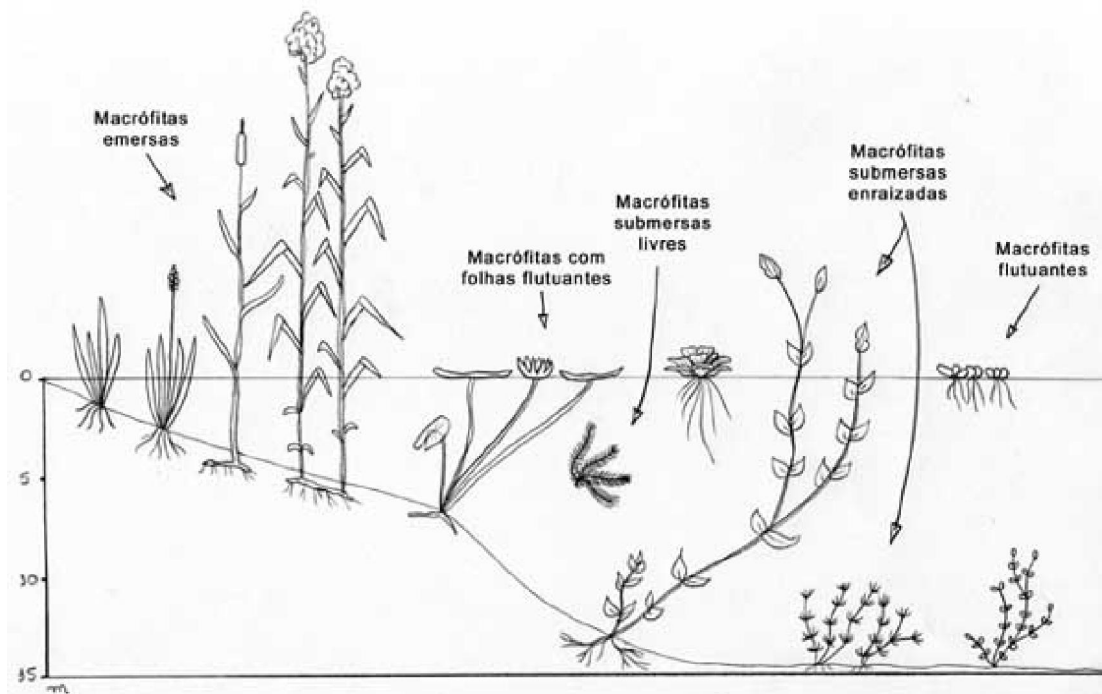


Figura 3.2: Classificação das Macrófitas segundo Pedralli.

Estas formas biológicas ocorrem distribuídas paralelamente, ou não, à margem dos cursos d'água, em geral de maneira organizada, formando uma zonação da margem para o interior da água, iniciando pelas plantas emersas passando pelas plantas de folhas flutuantes até submersas fixas.

A taxonomia desse grupo de plantas ainda não está devidamente esclarecida, tanto no que se refere aos vegetais inferiores como os superiores. Há um pequeno número de representantes de macrófitas aquáticas entre as famílias botânicas. Das 381 famílias de angiospermas (Magnoliophyta), incluídas no Sistema de classificação de Cronquist (1981), 316 são consideradas dicotiledôneas (magnoliopsida) e 65 monocotiledôneas. Entre as briófitas identificou-se 17 e entre as pteridófitas, seis famílias com representantes entre as macrófitas aquáticas segundo levantamento feito a partir de Cook (1974).

Macrófitas aquáticas podem colonizar diversos ambientes entre os quais se destacam: fontes termais, cachoeiras, lagos, brejos, rios, corredeiras, ambientes salobros e salgados. Essas

plantas possuem excelente capacidade de adaptação em ambientes diversificados, o que possibilita que uma mesma espécie faça parte de diferentes ecossistemas. (Pott, et al, 1999).

As macrófitas aquáticas são importantes na estruturação e funcionamento de muitos ecossistemas aquáticos e, além disso, são componentes significativos que exercem influencia em todos os níveis de organização trófica. É fundamental o conhecimento de suas relações no ambiente para compreensão dos processos ecológicos dos ecossistemas aquáticos. (Nogueira & Esteves, 1990).

De acordo com Dennis (1984) as macrófitas aquáticas têm habilidade de converter energia e nutrientes minerais em matéria orgânica (produtor primário), sendo utilizadas como fonte de alimentos para muitas espécies de organismos. São considerados macro e micro habitats para diversos grupos de plantas e animais macroscópicos e microscópicos; são utilizadas como substrato para postura e áreas berçários por vertebrados e invertebrados aquáticos, absorção e ciclagem de nutrientes e a habilidade para construir e estabilizar substratos.

O seu crescimento excessivo no ambiente pode causar efeitos prejudiciais, pois, sob condições ótimas crescem em média 5% ao dia. Temos como exemplo o aguapé (*Eichhornia crassipes*) que tem uma produção de aproximadamente 15 toneladas de biomassa úmida por dia por hectare. As principais conseqüências desse crescimento excessivo são a eliminação de habitat de desova para peixes, a alteração na estruturação do ambiente, a flutuação acentuada do nível de oxigênio da água, com fortes períodos de depleção noturna, a cobertura do espelho d'água, o impedimento da navegação, irrigação e disponibilidade de lazer podendo ainda afetar o modelo de correnteza e deposição de sedimentos. (Esteves, 1998).

De acordo com Menezes (1984), até a década de 50 não havia muitos estudos sobre macrófitas, pois se acreditavam que o papel que estas plantas desempenhavam não era relevante. No entanto, atualmente vem crescendo o número de pesquisas reconhecendo a sua importância ecológica, sendo que no Brasil, a partir da década de 80, este estudo vem aumentando consideravelmente (Thomas e Bini, 2003).

Pesquisas feitas na década de 60 e 70 comprovaram que muitas plantas aquáticas removiam poluentes da água, incluindo metais pesados, fosfatos e fenóis. (Wolverton & Wolverton 1975)

A literatura relata vários estudos com macrófitas, o que comprova a sua importância. A maioria desses estudos é realizada em áreas úmidas do Uruguai (Mazzeo et al., 1993 e Arocena & Mazzeo, 1994), da Argentina (Gantes & Tur, 1995; Pastore et al.; 1995) e Brasil. No Brasil são feitos estudos em regiões lênticas permanentes (Tundisi, 1977,78, Matsumura-Tundisi & Ferreira, 1976; Silva, 1980; Rolla et al., 1990, etc) ou em sistemas lóticos de regiões úmidas (Apesteguia & Marta, 1979; Walker & Ferreira, 1985; Neiff, 1986; Bonetto & Wais, 1990; Necchi & Branco, 1992; Necchi et al., 1995 etc.).

Os estudos são principalmente descritivos de distribuição e zonação (Reis & Barbosa, 1993; Pedrali et al., 1993; Moschini – Carlos et al., 1995; Esteves & Nogueira, 1995) de dinâmica populacional (Nogueira & Esteves, 1990; Menezes et al., 1993; Piedade, 1993; Pompóe & Moschini-Carlos, 1995) e de estocagem e reciclagem de nutrientes (Gadelha et al., 1990; Silva et al., 1993).

3.4 - MACRÓFITAS EMPREGADAS NA REMOÇÃO DE METAIS E METALÓIDES EM TRATAMENTO DE ÁGUA.

Várias espécies podem contribuir para o tratamento de água: *Typha angustifolia*, *Scirpus holoschoenus*, *Cyperus longus*, *Juncus acutus*, *Iris pseudacorus*, *Phragmites australis*, *Lemna minuta*, *Lemna minor*, *Wolfia columbiana*, *Salvinia natans*, *Eichhornia crassipes*, etc.

Alguns dos estudos relacionados à absorção de metais pesados e metalóides pelas macrófitas em água são descritos na literatura:

- *Azolla caroliniana*, *Salvinia minima* e *Lemna gibba* foram utilizadas nos experimentos na Universidade Federal de Viçosa (UFV) para remediação de ambientes contaminados por arsênio (As) e atrazine. Neste estudo foram feitos vários experimentos como: análise da absorção de arsênio pela planta em solução nutritiva e após adição de fosfato junto com arsênio em solução, pois ambos têm o mesmo sítio ativo da absorção pela planta. Verificou-se que três espécies apresentaram um maior acúmulo de *As*, na medida em que houve aumento da concentração do metalóide em solução, mas, com isso houve redução no ganho de massa fresca e seca. (Guimarães, 2006).
- *Eichhornia crassipes*(aguapé) e *Salvinia auriculata* foram utilizadas para retirar e acumular Cd em solução nutritiva em pesquisa na Universidade Federal de Viçosa. Neste experimento foram utilizadas concentrações diferentes de Cd: 0; 1,0; 2,5; 5,0; 10,0; e 20,0 M; em solução nutritiva de Hoagland n.1, com 1/5 da força iônica durante 10 dias. Neste experimento verificou-se que o aguapé retirou significativamente mais Cd do que a Salvinia, e esta diferença aumenta com o tempo de exposição. (Oliveira.2001).
- *Typha spp*, *Canna spp*, *Colocasia esculenta*, *Heliconia psittacorum* e *Thalia dealbata* foram utilizadas para retirar arsênio de água contaminada por arsênio em experimentos na Tailândia. As plantas foram colocadas em solução nutritiva de Hoagland com arseniato (NaHAsO. 7H₂O) com 1 mg.L⁻¹ em pH 5,5. Neste estudo, *Colocasia*

esculenta mostrou ser a melhor acumuladora de arsênio do que as outras plantas de estudo. (Aksorn.E & Visoottiviseth.P.2004).

- *Ruppia maritima* Linnaeus foi utilizada para remoção de Cádmiio de água contaminada no Rio de Janeiro (Guilherme. A.C 2005)
- *Spirodela Intermedia*, *Pistia stratiotes* e *Lemna minor* foram utilizadas para remover metais pesados como Pb^{2+} e Cd^{2+} . (Miretzky et al ., 2003)

Algumas espécies de macrófitas possuem grande capacidade de bioacumular poluentes (Garg, P. & Chandra, P., 1990), compostos orgânicos, fosfatados e compostos nitrogenados (Esteves, 1998).

A remoção de metais pesados e poluentes de soluções aquosas por estas plantas aquáticas foi caracterizada detalhadamente por (Schoneider, 1995).

Biossorção de Metais Pesados com Biomassa de Macrófitas Aquáticas foi verificado por Schneider, 1995.

3.5 – CARACTERÍSTICAS DAS MACRÓFITAS UTILIZADAS NO ESTUDO.

3.5.1 – IMPORTÂNCIA DA FAMÍLIA LEMNACEAE

No Brasil os estudos relacionados à família Lemnaceae são raros quando comparados com outras famílias. Estas plantas são muito pequenas, mas podem ser utilizadas para diversas finalidades.

Segundo Eugler (1964), a família Lemnaceae pertence à divisão Angiospermae, classe Monocotyledoneae e à ordem Spatiiflorae. Cronquist (1981) em seu sistema de classificação, das Magnoliophyta, a inseriu na classe Lileopsida, subclasse Arecidae e ordem Arales. São as menores angiospermas conhecidas (Melchior 1964; Engler 1877; Landolt 1981, 1986; Cook 1990) , O nome comum no Brasil é "lentilha-d'água", termo que consta no Dicionário de Botânica Font Quer, de 1953.

As macrófitas dessa família não apresentam diferenciação de caule. São reduzidas a um pequeno corpo talóide vegetativo, que recebe a denominação de fronde. As espécies são andróginas, monóicas, aquáticas anuais. Elas vivem em água doce, levemente submersa, ou flutuantes livres na superfície. Pequena parte da fronde fica exposta ao ar ou permanece completamente submersa, aparecendo no período de floração. A propagação é feita na maioria das vezes por processo vegetativo a partir do tecido meristemático. Esse processo inicia-se através da formação de uma ou duas cavidades vegetativas ou reprodutivas que dão origem a frondes filhas e essas por sua vez a outras frondes filhas e assim por diante (Figura 3.3)

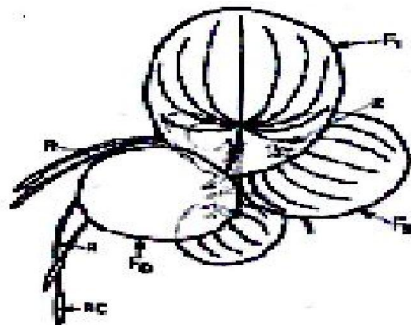


Figura 3.3: Esquema de *Lemna sp.*

A família Lemnaceae é composta por quatro gêneros: *Wolffiella*, *Spirodela*, *Wolffia* e *Lemna*, representadas por trinta e seis espécies, sendo o gênero *Wolffia*, o maior com cerca de quatorze espécies (Joly, 2002). No Brasil, principalmente na região do Pantanal do Mato Grosso existem espécies pertencentes a todos os gêneros de Lemnaceas conhecidos. Das treze espécies existentes no Brasil, oito ocorrem no Pantanal (Pott, et al 1993).

Estudos mostram que algumas espécies funcionam como excelente fonte de proteína para alimentação animal e humano (Russof, et al, 1980). Alguns autores sugerem que estas plantas apresentam alto valor nutricional, os que as tornam boas substitutas da soja na alimentação (Haustein, et al, 1990).

A família Lemnaceae possui grande potencial para ser utilizada em processos biotecnológicos (Landolt, et al 1987), incluindo remoção de nutrientes ou metais pesados da água (Fujita et al., 1999) e o uso em tratamentos de água (Bergmann et al., 2000).

Pesquisas demonstraram que as espécies dos gêneros *Lemna* e *Spirodela* são consideradas ótimos filtros biológicos, absorvendo 97% do teor de ortofosfato existente em ambiente aquático, como em um lago de pequena profundidade (Sutton, et al, 1975).

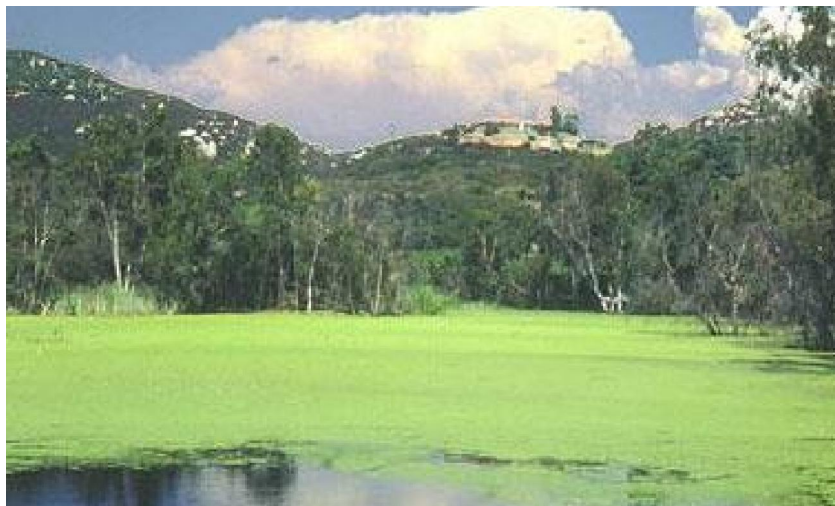


Figura 3.4: Alta produtividade de *Lemna sp.*, em um lago na América do Sul. (Pott, et al, 1992)



Figura 3.5: Alta produtividade de *Spirodela intermedia* em um lago em Khajuraho na Índia – janeiro 2008(Fonte própria)

3.5.2 – IMPORTÂNCIA DA FAMÍLIA SALVINIA

Segundo (Raven et al, 1996), a família salvinia pertence ao reino Plantae. São chamadas de samambaias aquáticas pertencentes ao grupo das Pterophytas (do grego *pteris*: feto; *phyton*: planta). São denominadas plantas vasculares sem sementes, seu corpo é diferenciado em raízes, caules e folhas, mas destituído de flores, sementes e frutos. Estas plantas aquáticas são constituídas de duas ordens, Marsileales e Salvinales.

A ordem Salvinales contém apenas uma família que é a *Salviniaceae*. Esta consta de dois gêneros: *Salvinia* e *Azolla*, ambos freqüentes em todo o Brasil e que se apresentam como pequenas plantas que flutuam na superfície da água (Joly, 1996).

Existem cerca de quinze espécies, sendo algumas delas brasileiras, como a *Salvinia auriculata*. Dentre as espécies da família Salvinaceae a que mais se destaca é a *Salvinia natans*.



Figura 3.6: Espécies de macrófitas do Brasil – *Lemna minuta* e *Salvinia natans*

3.5.3 - IMPORTÂNCIA DA FAMÍLIA MAYACACEAE

O Sistema de Cronquist, de 1981 reconhece a família mayacaceae como ordem Commelinales, na subclasse Commelinidae, classe Liliopsida = monocotiledôneas, na divisão Magnoliophyta = angiospermas.

É composta por 10 espécies num único gênero, o Mayaca. São plantas herbáceas, aquáticas, de folhas submersas ou emersas, filiformes ou lanceoladas. Ocorrem nas regiões subtropicais ou tropicais. Ocorrem abundantemente na região de Ouro Preto, Minas Gerais, nas lagoas do Parque Estadual do Itacolomy. (Watson & Dallwitz, 1992)

3.6. ACUMULAÇÃO DE METAIS PESADOS E DO METALÓIDE ARSÊNIO

Vários pesquisadores evidenciam o efeito que as plantas aquáticas apresentam em bioacumular nutrientes minerais dissolvidos na água. Como compostos orgânicos, fosfatados e compostos nitrogenados (Esteves, 1998).

No entanto, dentre os compostos presentes em sistemas aquáticos, destaca-se o grupo dos metais pesados, que compreende elementos químicos com densidade acima de 6 g/cm^3 . A contaminação do ambiente por metais potencialmente tóxicos tem se tornado preocupante, devido à utilização de grande variedade desses elementos pelo setor industrial (Corrêa et al., 2002; Moraes, 1999).

Metal pesado é um termo aplicado para os grupos de metais e metalóides que apresentam densidade maior que 6 g/cm^3 (Alloway 1993). Porém, alguns metalóides como o Arsênio, que possuem densidade menor ($5,73 \text{ g/cm}^3$) é incluído neste grupo devido a sua toxicidade, mesmo em baixas concentrações, aos seres que se encontram no meio ambiente por ele contaminado. Como metais pesados são também conhecidos o cádmio (Cd), o Cobre (Cu), o mercúrio (Hg), o níquel (Ni), o chumbo (Pb) e o zinco (Zn).

Os metais pesados são cumulativos, não sofrendo decomposição no meio ambiente, assim mantendo efeitos indesejáveis durante muito tempo. Não podem ser destruídos e é altamente reativo do ponto de vista químico, o que explica a dificuldade de encontrá-los em estado puro na natureza. Normalmente se apresentam em concentrações muito pequenas, e sempre estão associados a outros elementos químicos, formando minerais em rochas. Quando lançados na água como resíduo, podem ser absorvidos pelos tecidos animais e vegetais.

A maioria das plantas é sensível aos metais pesados e metalóides quanto ultrapassam certas concentrações. No entanto algumas espécies são capazes de crescer sobre ambientes contaminados., pois desenvolvem mecanismos de desintoxicação evitando o efeito do excesso de metais pesados ou metalóide sobre o metabolismo, crescimento e reprodução. (Larcher 2000)

As plantas quanto a biodisposição do metal pesado ou metalóide podem ser classificadas como sensíveis, tolerantes, acumuladoras e hiperacumuladora.

As sensíveis não apresentam mecanismos de escape ou tolerância a determinados íons como, Hg, Cu, Pb, Zn e As e desta forma, tem dificuldades de colonizar e sobreviver em solos e água contaminados. As plantas tolerantes, quando sujeitas aos contaminantes têm desenvolvido mecanismos de evitar ou excluí-los com o intuito de reduzir a incorporação celular. Já as plantas acumuladoras ou hiperacumuladoras acumulam enormes concentrações de contaminantes, mas para isso desenvolvem mecanismos de detoxicação.. (Goodland & Ferri 1979, Levit 1980; Haridansan 2000, Siegel 2002, Cai et al 2004).

Plantas classificadas como acumuladoras acumulam entre 100 a 1000 mg.L⁻¹ ou mg/Kg e hiperacumuladoras acumulam acima de 1000 mg/l. (Brooks, 1983)

O arsênio é encontrado na natureza na forma de arsenopirita (FeAs) e Realgor (AsS). Na sua especiação, o íon As³⁺ é mais tóxico do que o As⁵⁺.

A Resolução 357, de 17 de março de 2005 (Conama, 2005), estabelece limites entre 0,01 mg.L⁻¹ a 0,14 mg.L⁻¹ de *As* em água, dependendo do seu tipo de uso. Essa resolução também estabelece o limite máximo de 0,5 mg.L⁻¹ de *As* em efluentes. Apesar disso, existem muitas áreas contaminadas, especialmente pelos rejeitos de mineração, que causam sérios prejuízos ambientais (Grimalt *et al.*, 1999; Deschamps *et al.*, 2002).

O ser humano pode ser exposto ao arsênio através do ar, alimento ou água. No entanto, água com altas concentrações de arsênio é a principal fonte de contaminação (Mazumder 2000).

O arsênio pode causar vários males aos seres humanos, mas isso depende da sua dose, da modalidade e do tempo de exposição. As doenças podem ser: câncer de pele, pulmão, bexiga, rins e fígado; queratose, doenças gastrointestinais, neurológicas e endocrinológicas. (Organização Mundial da Saúde - WHO – 2001). Além dessas enfermidades causadas acima, estudos recentes têm relacionado a ingestão de arsênio com o aumento de casos de diabetes mellitus, abortos espontâneos e doenças respiratórias (WHO 2001 a ; Milton et al. Tseng et al. 2004;,))

Estudos de áreas que apresentam concentrações elevadas de arsênio têm sido documentados desde a década de 60, quando problemas de saúde foram relacionados a altas concentrações de arsênio em água de consumo humano em Taiwan. (Smedley & Kinniburgh 2002). A partir desta data também foram detectados no Chile, na Argentina e em Bangladesh.

A preocupação com o arsênio no Brasil começou a partir da época de 1990. Ele pode se dispor de maneira natural através de um processo geológico ou físico-químico e por ação antrópica, acumulando na biota e no ser humano. A região do Quadrilátero Ferrífero em Minas Gerais é principalmente afetada, devido a uma anomalia natural desse elemento relacionada ao intemperismo das rochas, acelerada pela exploração sem controle durante o ciclo do ouro e o início da exploração de minérios de ferro e manganês na década de 80. Além do arsênio, a mineração pode carrear vários outros metais, tais como Cu, Zn e Pb que também são prejudiciais aos seres humanos. (Borba et al 2004)

Na região de Ouro Preto, Minas Gerais, as grandes áreas de mineração trazem como consequência o aumento da concentração de arsênio nas Bacias dos Rios do Carmo, Doce e das Velhas, e este principal afluente do Rio São Francisco. Assim encontra-se arsênio em captações de águas, em galerias de minas antigas e em bicas, chafarizes e captação da prefeitura. A maior concentração de arsênio é no início do período chuvoso, pois neste período, a chuva carrega todo o arsênio das galerias jogando-o nos rios e lagos. (Borba et al 2004)

Estudos realizados por Silva (1997); Borba (2002); Deschamps(2002) Pimentel et al. (2003); Gonçalves et al. (2005); e comprovam a contaminação por arsênio da água, solo e sedimentos no quadrilátero ferrífero.

CAPITULO 4

PARTE EXPERIMENTAL

4.1. Obtenção das macrófitas aquáticas

As macrófitas aquáticas do gênero *Lemna e Spirodela* foram fornecidas para o experimento pelo professor do Departamento de Ciências Biológicas Mauro Schettino e pelo professor Sidney Augusto Vieira Filho, do Departamento de Farmácia. Essas macrófitas são originárias da região do Pantanal, e foram coletadas, enviadas e identificadas pela pesquisadora da Embrapa Vali Joana Pott.

A espécie *Salvinia auriculata* foi coletada na Reserva Ecológica do Tripuí - Ouro Preto, Minas Gerais e a do gênero *Mayaca* foi coletada na Reserva Ecológica do Itacolomy, após a permissão do Instituto Estadual de Florestas (IEF).

4.2. Adaptação das macrófitas aquáticas no laboratório

As espécies de macrófitas coletadas foram imediatamente higienizadas em solução de hipoclorito de sódio 1% (v/v), durante 1 minuto e enxaguadas em água deionizada, na qual foram mantidas por 24 horas. A seguir, foram transferidas para recipientes de polietileno com 10 L de solução nutritiva de Hoagland nº1 (1/5 força iônica), pH 7, por 10 dias.

4.3. Avaliação do crescimento

Em 25 potes plásticos não transparentes, contendo 500mL da solução nutritiva de Hoagland nº1 (1/5 força iônica), foi colocado um grama de massa fresca das plantas. Os potes foram mantidos em sala de crescimento com temperatura e luminosidades controladas, durante 10 dias.

A cada dois dias, as plantas de cinco potes foram recolhidas, secas em papel toalha e pesadas. A seguir, foram secas em estufa a 70°C até obtenção de massa seca constante.

Os dados obtidos das massas fresca e seca foram usados para análise de crescimento das plantas, em condições de estufa de crescimento.

O procedimento foi realizado para todas as quatro espécies de macrófitas: *Spirodela intermedia*, *Lemna minuta*, *Salvinia auriculata* e *Mayacacia*.

4.4. Cultivo em solução contendo arsênio

Em potes de plásticos não transparentes contendo 1000 mL de solução de Hoagland nº1 (1/5 força iônica) mantidos em estufa de crescimento, com temperatura e luminosidade controladas. As espécies de macrófitas *Spirodela intermedia* e *Lemna minuta* foram cultivadas em solução contendo arsênio na forma de arseniato de Sódio ($\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$). Os ensaios foram realizados em triplicata e um controle foi realizado em paralelo. Para cada espécie, 5 g de massa fresca por unidade amostral, foram tratadas com a concentração de $1,5 \text{ mg.L}^{-1}$ de arsênio, (sendo 5 mg.L^{-1} de arseniato de sódio) no pH 5,5 e pH 7,0, para trabalhar com diferentes especiações do arsênio. O tempo de cultivo das macrófitas na solução contendo arsênio foi de 10 dias.

A concentração de arsênio utilizada foi baseada na Resolução 357, de 17 de março de 2005 (Conama, 2005), que estabelece limites entre 0,01 mg/L a 0,14 mg/L de *As* em água, dependendo do seu tipo de uso. Essa resolução também estabelece o limite máximo de 0,5 mg/L de *As* em efluentes. Verificando o limite de arsênio estabelecido na legislação, os experimentos foram realizados em uma concentração de arsênio dez vezes maior que a concentração permitida em água.

Alíquotas de 2,0 mL da solução foram retiradas de cada pote no tempo zero, antes da introdução das plantas na solução contendo arsênio para verificar a concentração inicial do arsênio. A seguir, as alíquotas de 2,0 mL passaram a ser retiradas de cada pote, a cada quatro horas no primeiro dia e uma vez por dia durante o tempo de cultivo na solução.

Os valores de pH 5,5, e 7,0 foram controlados e corrigidos a cada dois dias. Os potes receberam oxigenação diária por duas horas.

As amostras coletadas foram preservadas sob refrigeração e os teores de arsênio determinados.

4.5. Determinação do teor de arsênio.

Nas águas contaminadas

A concentração inicial do sal arseniato de Sódio ($\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) foi de 5000 mg.L^{-1} , correspondendo a 1500 mg.L^{-1} de arsênio.

A curva de calibração estabelecida na faixa de 2,5 a 100 mg.L^{-1} . As alíquotas foram diluídas 15 vezes, se enquadrando assim dentro desta faixa de concentração.

O preparo da amostra para análise foi feito da seguinte maneira:

Em um balão volumétrico de 10,0 mL adicionou-se:

- 0,666 mL da amostra da alíquota contendo arsênio;
- 1,67 mL de Acido clorídrico 6M;
- 0,1 mL de Tiosulfato de Sódio 0,32M;
- 0,060 ml de Cloreto de cobre II 50g/L
- Completou-se o volume do balão volumétrico com água ultrapura (*Milli-Q*).

O teor de arsênio foi analisado em um polarógrafo METROHM Computrace, por Voltametria de Onda Quadrada sobre eletrodo de Mercúrio.

Na biomassa das macrófitas:

Ao final do experimento, as plantas foram lavadas com solução de ácido nítrico 1%, para remoção do arsênio adsorvido na superfície das mesmas. Posteriormente, estas plantas foram secas em estufa a 70°C , até obtenção de massa seca constante. A massa seca foi utilizada para determinação de arsênio absorvido do meio.

A massa seca inicial foi calculada a partir da média obtida de três repetições, cada uma contendo 5 g de massa fresca por espécie (Cedergreen, 2004).

Preparo da amostra – digestão

O Método utilizado foi o 3052- Microwave Assisted Acid Digestion of Siliceous and Organically Based matrices WS EPA 1996.

Em tubos de teflon para microondas, 0,2 g das plantas secas e inteiras foram pesadas e 5,0 mL de ácido nítrico (67%) e 2 mL de peróxido de hidrogênio (30%) p/p foram adicionados.

Após a adição, a mistura foi deixada em repouso, em pré-digestão a frio, por 24 horas. A seguir, colocou-se a mistura em prato giratório até oxidação total (solução límpida).

Após a digestão, os tubos de teflon foram lavados com água mili-Q (Ultra pura) e aferidos em balão volumétrico de 10 mL.

As concentrações de arsênio nas plantas digeridas também foram determinadas por Voltametria de Onda Quadrada sobre eletrodo de Mercúrio.

4.6. Análise estatística dos dados

Para analisar se existe uma diferença significativa entre a absorção de arsênio das plantas com relação ao tempo foi feito análise de variância One Way.

CAPITULO 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Avaliação do crescimento das plantas

O crescimento de quatro espécies de macrófitas foi avaliado. A taxa de crescimento foi analisada relacionando as massas fresca e seca das espécies estudadas: *Spirodela intermedia*, *Lemna minuta*, *Mayacacia* e *Salvinia auriculata*. Os resultados estão ilustrados nos gráficos das figuras 5.1 a 5.9.

A análise do crescimento pela massa seca da espécie *Spirodela intermedia* demonstra que não houve crescimento considerado do primeiro ao quinto dia. Taxa expressiva foi observada do sexto ao oitavo dia. (Figura 5.1).

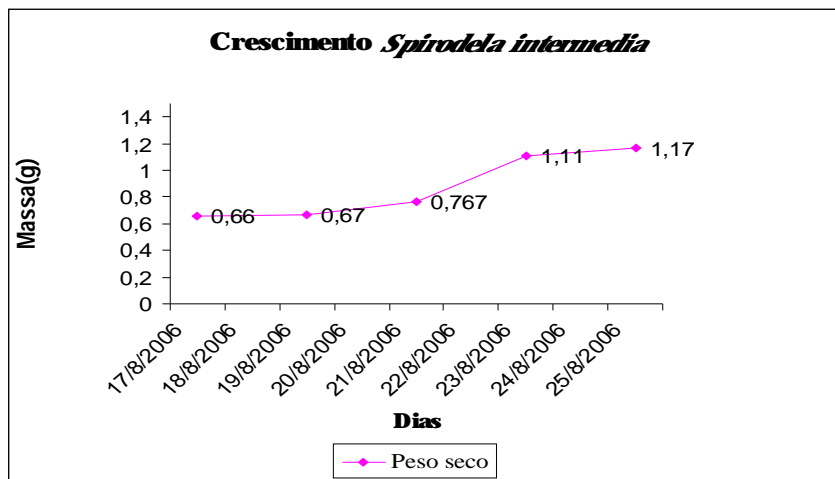


Figura 5.1: Avaliação do crescimento do peso seco de *Spirodela intermedia*

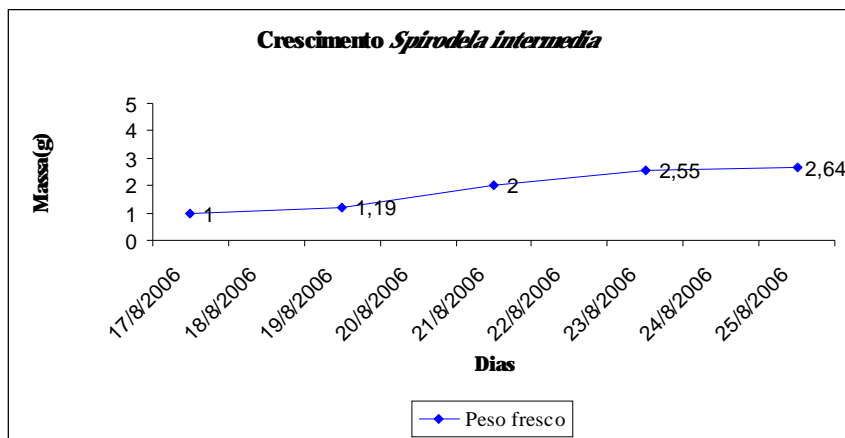


Figura 5.2: Avaliação do crescimento do peso fresco de *Spirodela intermedia*

A análise do crescimento pela avaliação da massa fresca da espécie *Spirodela intermedia* teve um comportamento semelhante ao da massa seca. (Figura 5.2).

O crescimento avaliado pela massa seca da espécie *Lemna minuta* foi gradativo até o sexto dia. A partir desse dia, observaram-se picos de crescimento até o décimo dia.

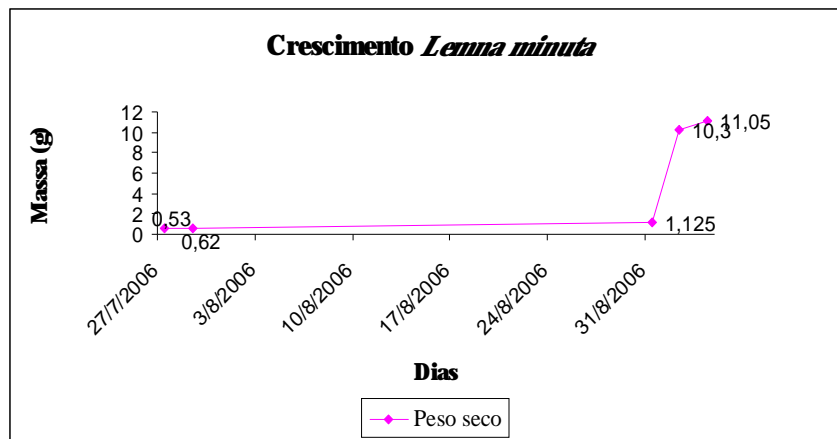


Figura 5.3: Avaliação do crescimento do peso seco de *Lemna minuta*

A avaliação do crescimento pela massa fresca da espécie *Lemna minuta* teve um comportamento semelhante ao da massa seca. (figuras 5.3 e 5.4).

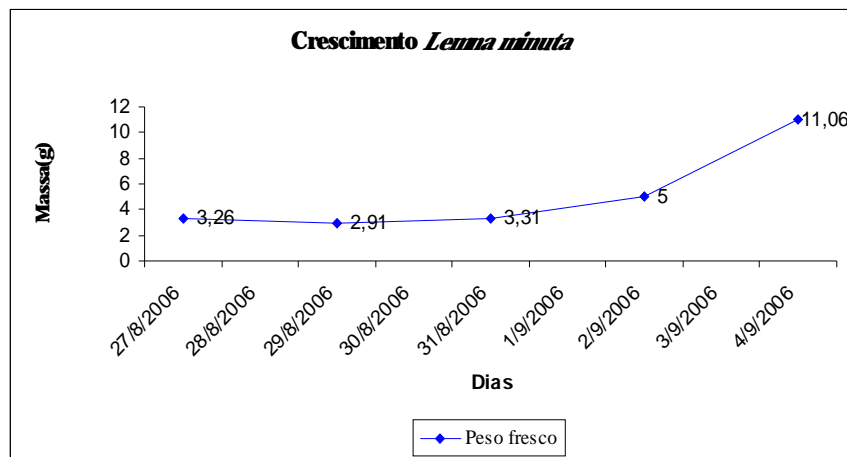


Figura 5.4: Avaliação do crescimento do peso fresco de *Lemna minuta*

A curva de crescimento avaliada pelas massas seca e fresca da *Mayacacia* mostram um crescimento regular, porém de baixa intensidade. (Figuras 5.5 e 5.6).

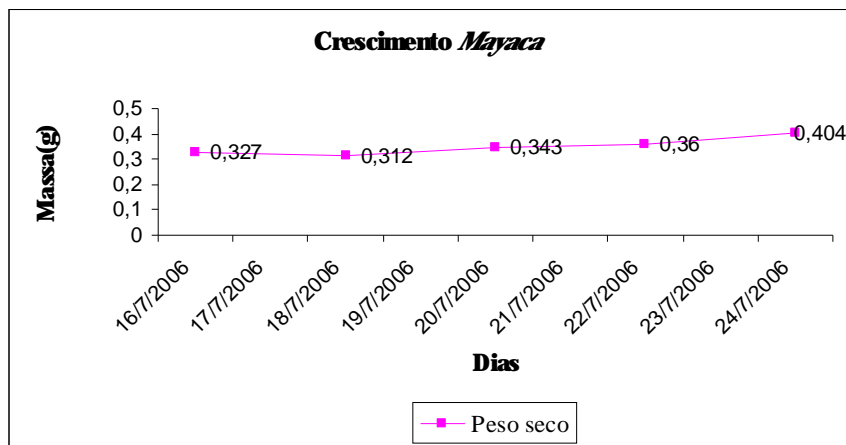


Figura 5.5: Avaliação do crescimento do peso seco da *Mayaca*

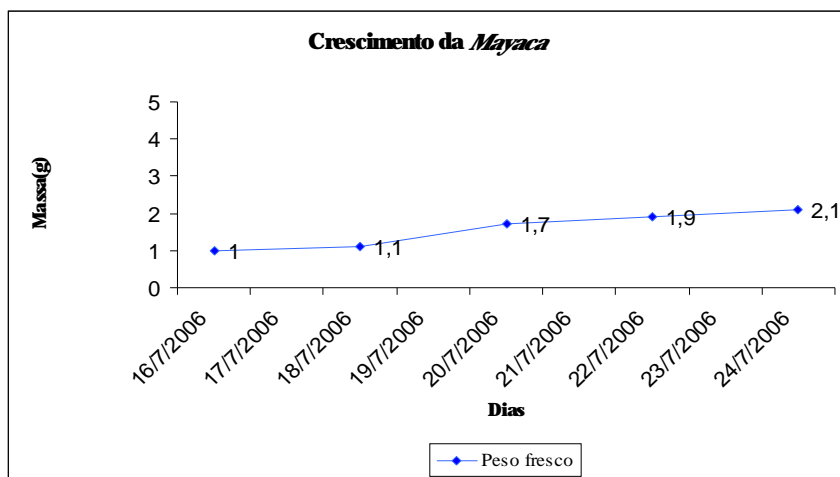


Figura 5.6: Avaliação do crescimento do peso fresco da *Mayaca*

As curvas de crescimentos analisando as massas, seca e fresca da *Salvinia auriculata* apresentaram pequenos picos de crescimento no sexto e décimo dia de cultivo, intercalados com baixa de crescimento no quarto e oitavo dia. (Figuras 5.7 e 5.8).

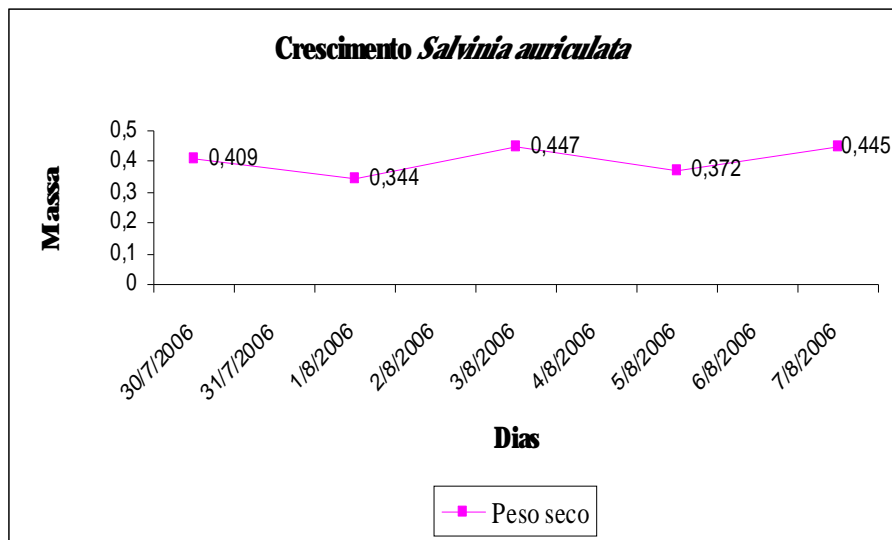


Figura 5.7: Avaliação do crescimento do peso seco da *Salvinia auriculata*

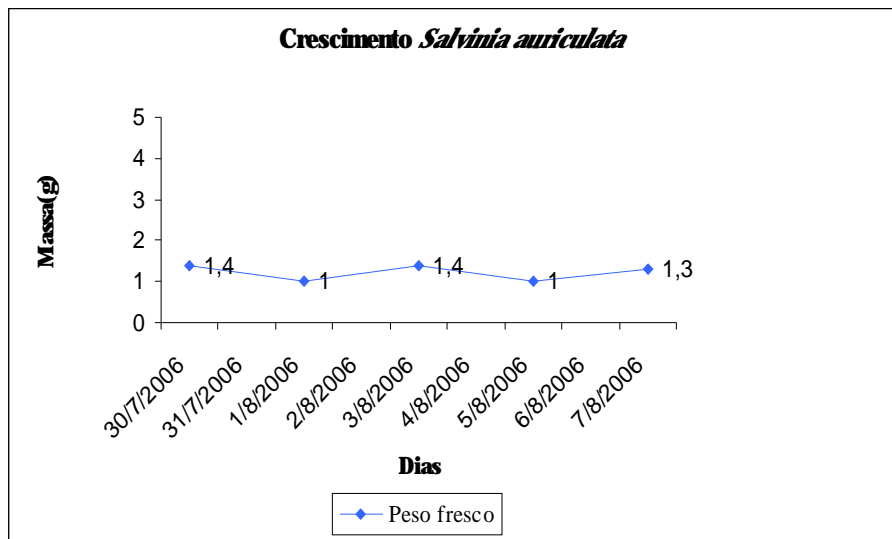


Figura 5.8: Avaliação do crescimento do peso fresco da *Salvinia auriculata*

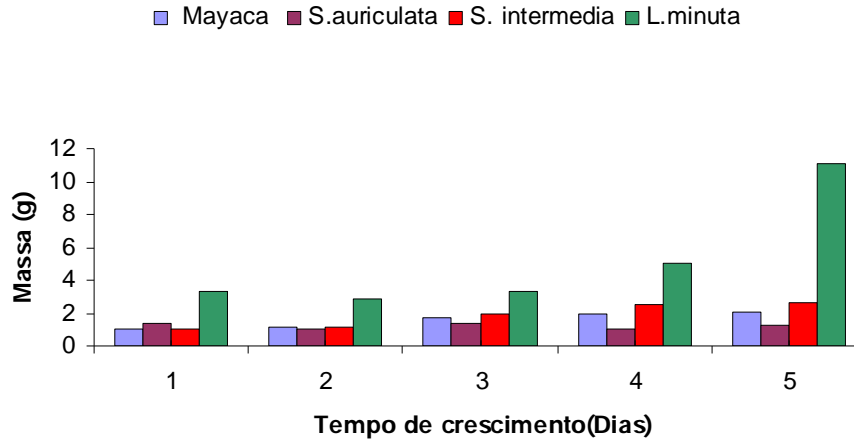


Figura 5.9: Comparação do crescimento das espécies de macrófitas do estudo (peso fresco)

O objetivo deste teste foi avaliar o crescimento das plantas, sendo que o crescimento rápido e a grande produção de biomassa em curto intervalo de tempo são pré-requisitos para seleção e utilização de plantas em estudos de fitorremediação, pois quanto maior o crescimento, maior a absorção de poluentes, metalóides e metais pesados.

No entanto, comparando as curvas de crescimento (Figura 5.9), verificou-se que entre as quatro espécies submetidas ao teste, as espécies *Spirodela intermedia* (Figuras 5.1 e 5.2) e *Lemma minuta* (Figuras 5.3 e 5.4) apresentaram um crescimento significativo, quando comparadas com a família Mayacacia (Figuras 5.5 e 5.6) e a espécie *Salvinia auriculata* (Figuras 5.7 e 5.8).

Estudo feito por Finlayson (1984), observou altas taxas de crescimento específico em reduzido tempo de duplicação (2,7 dias) para uma espécie de *Salvinia*, ao contrário do observado neste experimento.

A partir desses resultados, as espécies *Spirodela intermedia* e *Lemma minuta* foram selecionadas para a realização dos experimentos, conforme os dados obtidos.

5.2. CARACTERIZAÇÃO VISUAL DAS CULTURAS CULTIVADAS EM SOLUÇÃO CONTENDO ARSÊNIO

5.2.1. Cultura de *Spirodela intermedia* em pH 5,5.

A análise visual da cultura da espécie *Spirodela intermedia* em experimento no pH 5,5 está apresentada nas figuras 5.10 e 5.11.

Observou-se que a cultura controle (sem arsênio) apresentou a solução turva e suas plantas com aspecto saudável (verdinhas). Nas soluções que continham arsênio, as plantas apresentaram aspecto amarelado. (Figuras 5.10 A, B e C). Provavelmente, devido à absorção do arsênio da solução.

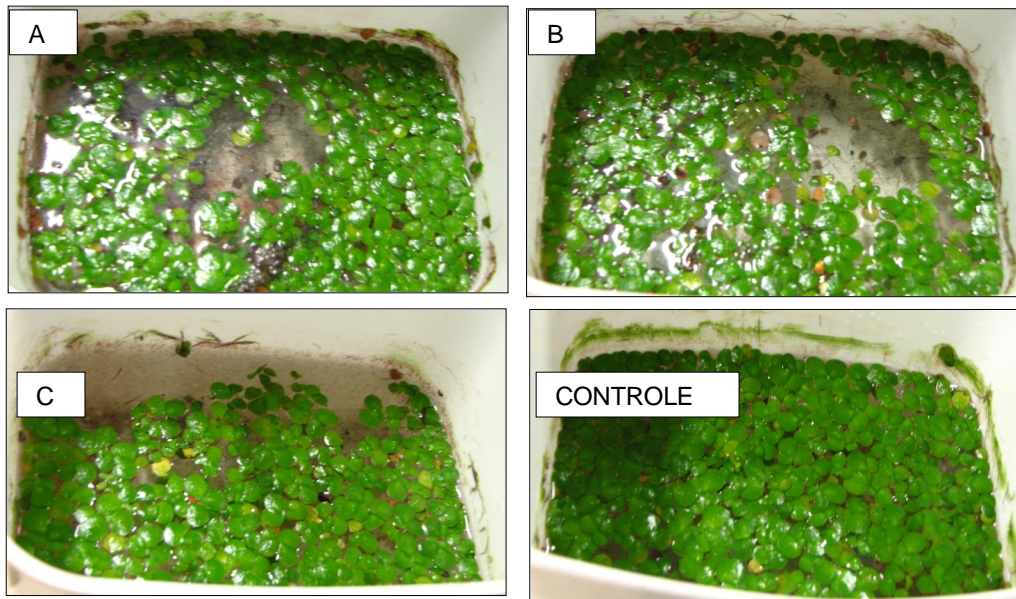


Figura 5.10: Cultura de *Spirodela intermedia* em pH 5: Controle – cultura na ausência de arsênio e A-B-C - culturas em presença de arsênio.

A figura 5.10 ilustra o final do experimento em que a biomassa foi recolhida para posterior secagem e digestão.

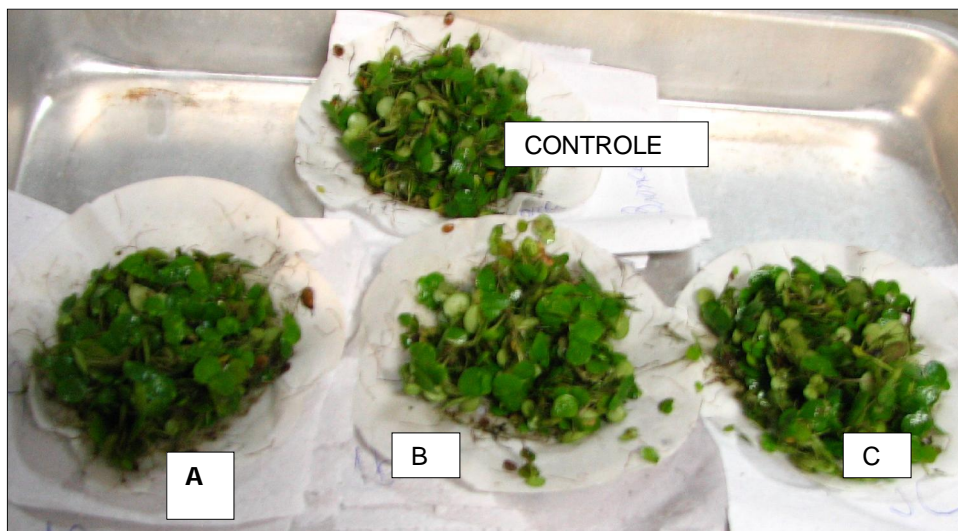


Figura 5.11: *Spirodela intermedia* depois de retirada da solução.

5.2.2. Cultura de *Spirodela intermedia* em pH 7,0.

A análise visual da cultura da espécie *Spirodela intermedia* em experimento no pH 7,0 está apresentada nas figuras 5.12 e 5.13.

No experimento em pH 7,0 observou-se que as culturas apresentaram-se aparentemente límpidas, independente da presença do arsênio. A cultura das macrófitas controle apresentou-se saudável (verdinhas), enquanto as culturas em presença de arsênio tornaram-se com coloração amarela, como observado no experimento em pH 5,5.

Observou-se que o cultivo das macrófitas em presença do arsênio a pH 5,5 causou menor agressão à planta que em pH 7,0. A cultura em pH 7,0 apresentou maior proporção de coloração amarela. O que também pode ser atribuído a maior absorção do arsênio pela planta, nesse pH.

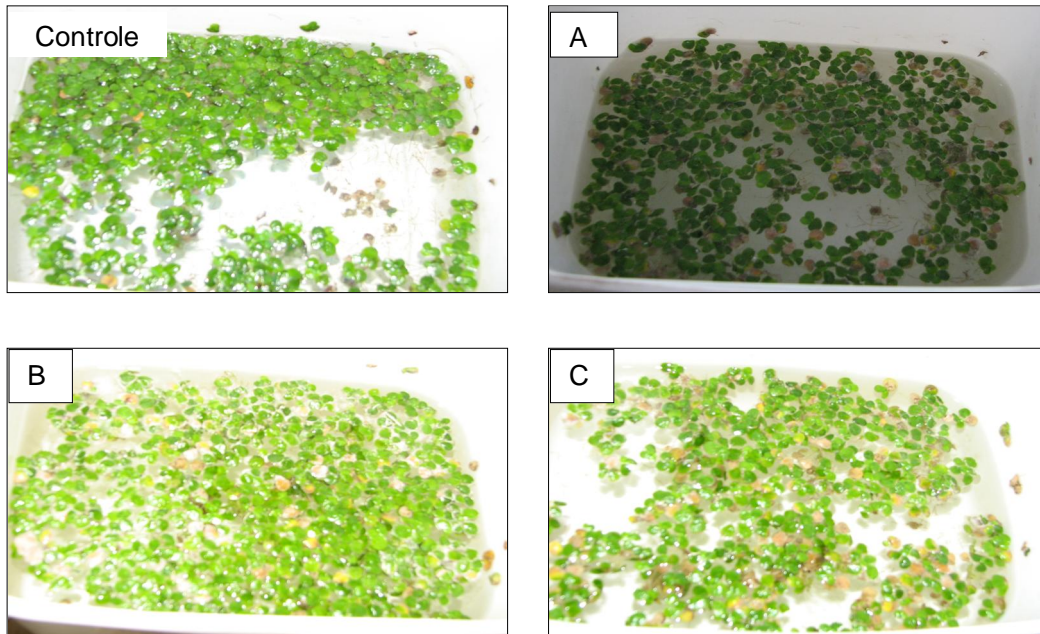


Figura 5.12: Cultura de *Spirodela intermedia* em pH 7,0: Controle – cultura na ausência de arsênio e A-B-C - culturas em presença de arsênio.

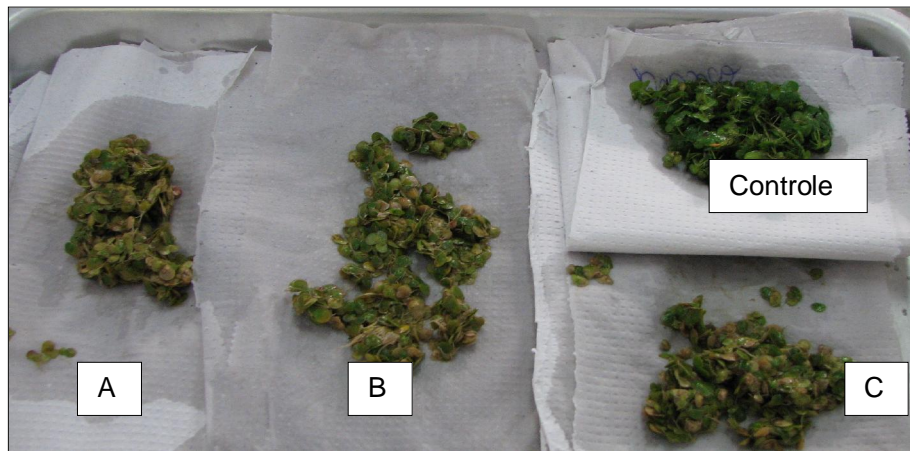


Figura 5.13: *Spirodela intermedia* depois de retirada da solução em pH 7,0.

5.2.3. Cultura de *Lemna minuta* em pH 7,0

A cultura da macrófita *Lemna minuta* não apresentou nenhuma alteração visual, na presença ou na ausência de arsênio, em pH 7,0. A coloração verde característica se manteve durante todo o experimento. (Figura 5.14).

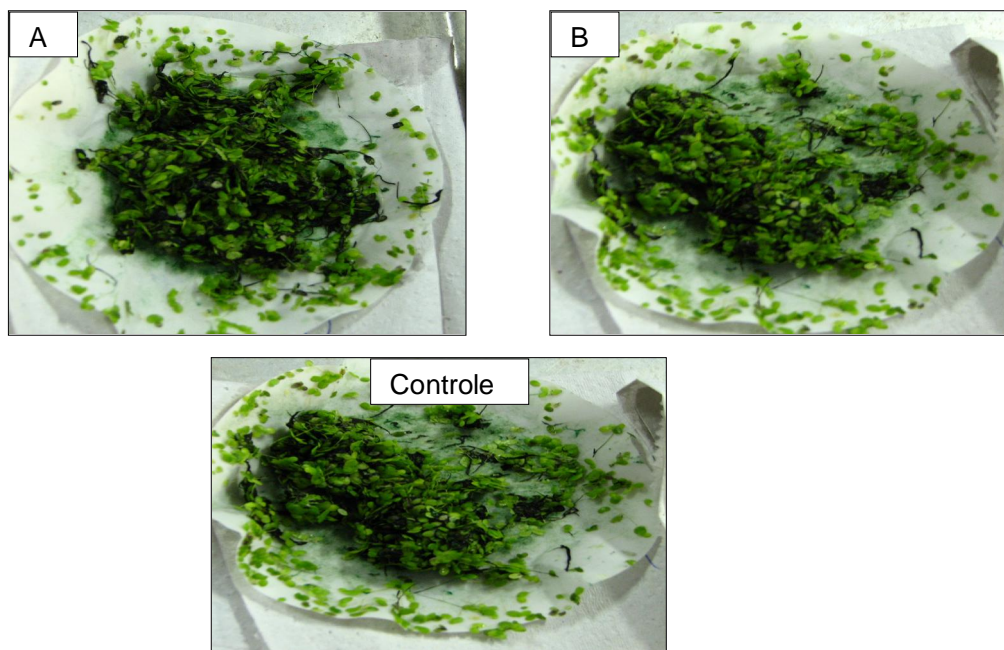


Figura 5.14: Cultura de *Lemna minuta* em pH 7,0: Controle – cultura na ausência de arsênio e A-B Culturas em presença de arsênio.

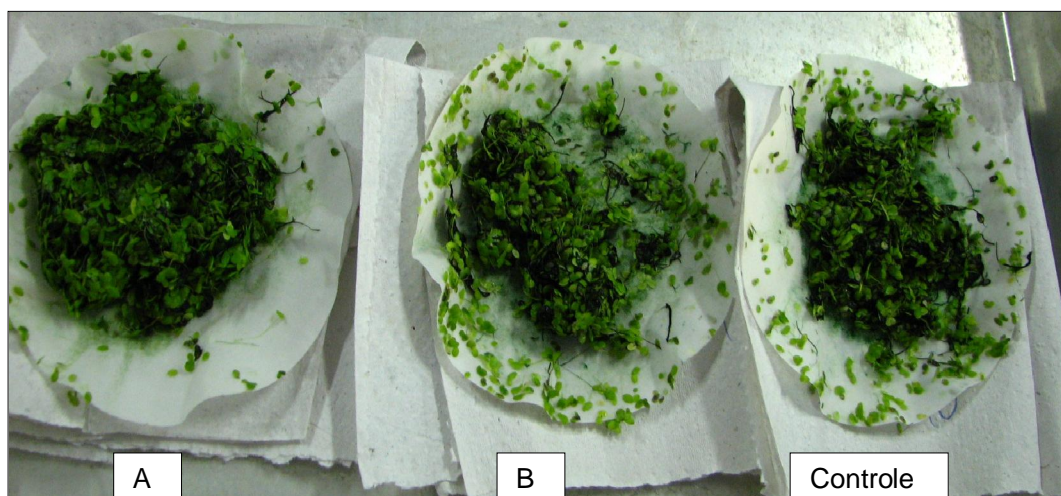


Figura 5.15: Culturas de *Lemna minuta*, após colheita no pH 7,0.

A figura 5.15 apresenta o final do experimento, a biomassa foi recolhida para posterior secagem e digestão.

5.2.4. Cultura de *Lemna minuta* em pH 5,5.

A cultura da macrófita *Lemna minuta* não apresentou nenhuma alteração visual, semelhante ao pH 7,0 na presença ou na ausência de arsênio, em pH 5,5. A coloração verde característica se manteve durante todo o experimento. (Figura 5.16).

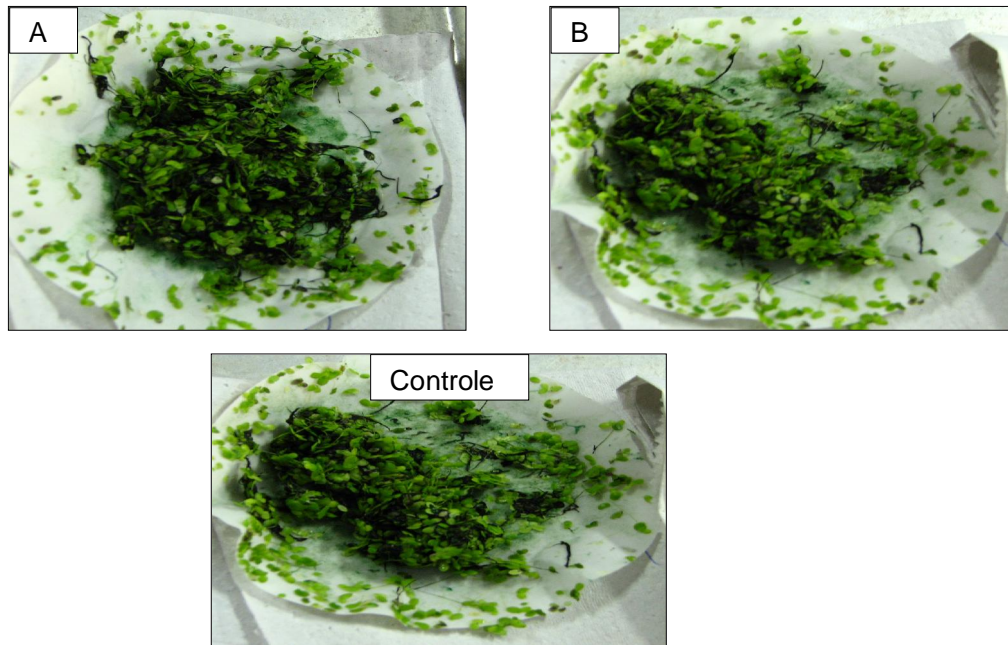


Figura 5.16: Cultura de *Lemna minuta* em pH 5,5: Controle – cultura na ausência de arsênio e A-B Culturas em presença de arsênio.

Estudos mostram que soluções de arsênio podem causar danos às plantas como nos seguintes experimentos:

GUIMARÃES, 2006 realizou dois estudos avaliando a acumulação de arsênio em macrófitas. Em um deles estudou *Salvinia auriculata* e *Eichornia crassipes*, as primeiras foram visualmente mais sensíveis ao arsênio, apresentando estado de senescência e as últimas praticamente não apresentaram nenhuma alteração morfológica. No outro experimento com a macrófitas *Azola caroliniana*, *Lemna gibba* e *Salvinia minima* verificou também que as três espécies estudadas apresentaram sintomas típicos de toxicidade. Sing *et al.* (2005).

Já nestes experimentos verificou-se que as macrófitas não apresentaram nenhuma relação de toxicidade, pois não apresentou nenhum sinal disso, como necroses, cloroses e baixo ganho de massa fresca e seca. Sing *et al.* (2005). No experimento apresentou somente amarelamento das folhas, que pelo observado não causando prejuízo para as macrófitas.

5.3. INFLUÊNCIA DO ARSÊNIO NO CRESCIMENTO DAS MACRÓFITAS.

A influência do arsênio no crescimento das macrófitas também foi avaliada. Os resultados estão apresentados nos gráficos das figuras 5.17 a 5.20. Verificou-se que o arsênio não interfere no crescimento das plantas, quando os cultivos são comparados com o experimento controle, usando a massa fresca. Os resultados estão apresentados de acordo com os valores de pH usados: pH 7,0 – figuras 5.16 e 5.17 e pH 5,5 – figuras 5.18 e 5.19. Observa-se também, que não há diferença entre o crescimento nos dois pHs.

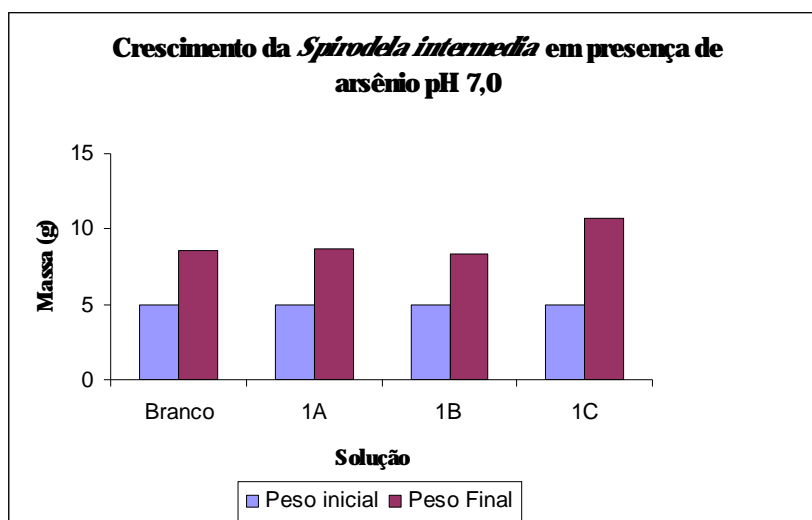


Figura 5.17: Crescimento da *Spirodela intermedia* em presença de arsênio em pH 7,0

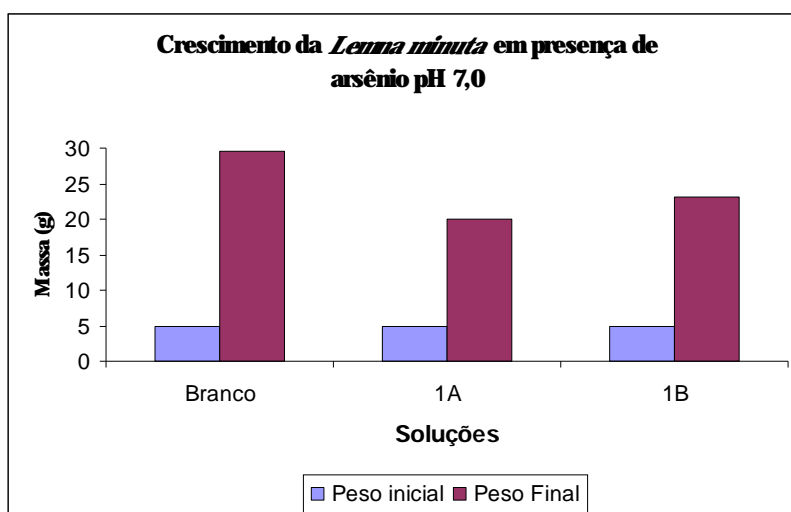


Figura 5.18: Crescimento da *Lemna minuta* em presença de arsênio em pH 7,0

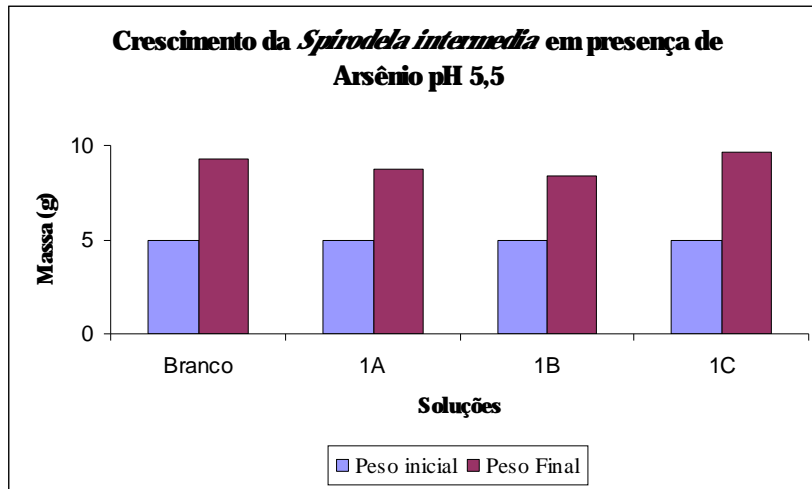


Figura 5.19: Crescimento da *Spirodela intermedia* em presença de arsênio em pH 5,5.

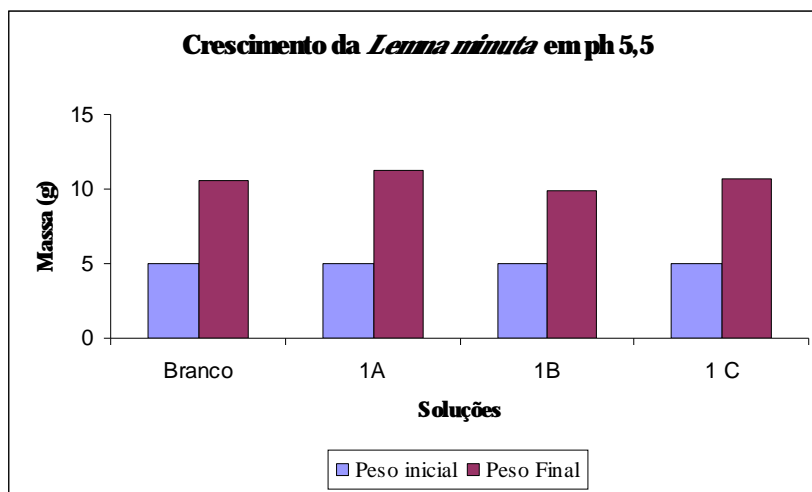


Figura 5.20: Crescimento da *Lemna minuta* em presença de arsênio em pH 5,5.

A taxa de crescimento da planta é um fator crucial para mostrar tolerância das plantas à exposição ao arsênio. O arseniato não é essencial para plantas, mas sua estrutura é similar ao fosfato, que é um nutriente essencial para plantas. Quando se tem os dois elementos eles competem entre si, embora tenha uma afinidade maior para fosfato do que para o arseniato. (Meharg and Macnair, 1990)

De acordo com Guimarães, 2006, o mesmo aconteceu, quando se verifica o crescimento de macrófitas em presença de arsênio. A massa fresca das macrófitas *Azola caroliniana*, *Lemna gibba* e *Salvinia minima*, expostas as diferentes concentrações de *arsênio* aumentou ao longo

do período experimental, apresentando crescimento exponencial para todas as concentrações. Somente *S. minima*, não apresentou crescimento considerável, ao contrário das demais espécies.

Oliveira (2001) em seu trabalho sobre a absorção e acúmulo de cádmio e seus efeitos sobre o crescimento relativo de plantas de aguapé (*Eichhornia crassipes*) e de salvinia (*Salvinia auriculata*) verificou que taxas de crescimento relativo decresceram intensamente com o aumento da concentração de Cd na solução nutritiva nas duas espécies aquáticas, especialmente em salvinia, diferentemente dos resultados anteriores.

Reddy & Debusk (1985), em experimento de laboratório trabalhando com *S. molesta* em concentrações de ortofosfatos de 3 mg.L⁻¹ verificaram taxa de duplicação de apenas 1,4 dias.

De acordo com a literatura citada, observa-se que a taxa de crescimento é variável dependendo da espécie e elemento, a qual a macrófita é exposta.

De acordo como os gráfico acima e como os autores citados, verificam-se que as macrófitas de estudo não sofrem diminuição em seu crescimento quando estão em solução de arsênio, sendo então tolerantes ao arsênio.

5.4. AVALIAÇÃO DA REMOÇÃO DE ARSÊNIO PELAS MACRÓFITAS.

5.4.1. Absorção em pH 7,0.

Os gráficos das figuras 5.21 e 5.22 apresentam os resultados da absorção de arsênio pelas duas espécies de macrófitas *Spirodela intermedia* e *Lemna minuta*, respectivamente. Estes foram registrados como unidade e média das três determinações.

Os experimentos foram realizados em triplicata e um controle foi realizado em paralelo. O acúmulo de arsênio pela *Spirodela intermedia* em pH 7,0 (figura 5.21) mostrou pequenas variações durante todo o experimento. No 4º dia, o experimento 1A apresentou um grande aumento na concentração de arsênio, enquanto no experimento 1B notou-se um decréscimo. Provavelmente, houve alguma contaminação na manipulação da solução de arsênio.

No experimento C observou-se um melhor padrão da absorção.

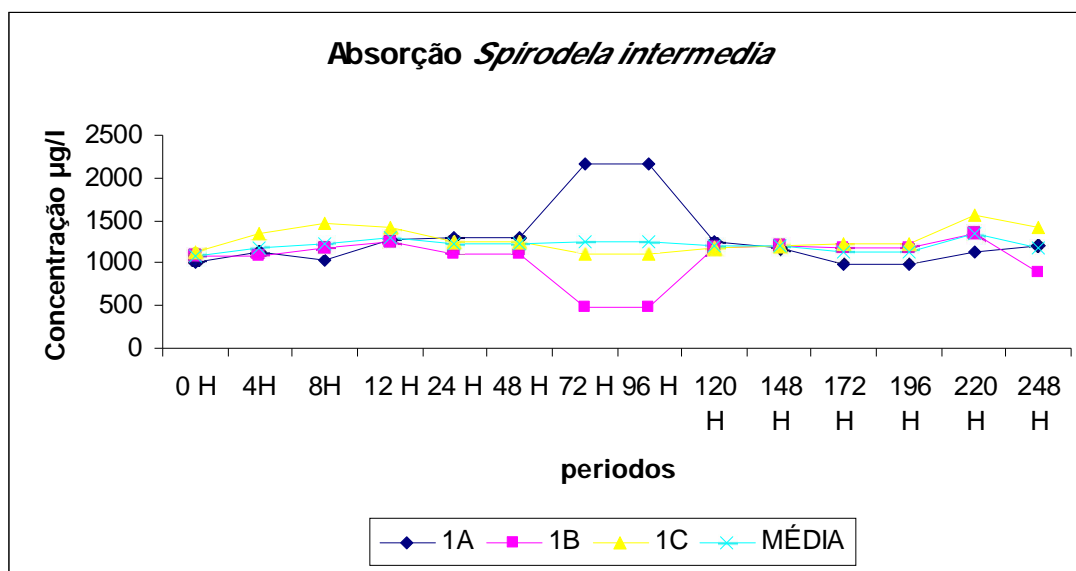


Figura 5.21: Absorção de arsênio por *Spirodela intermedia* em pH 7,0.

De acordo com a análise estatística **One Way Anova** verificou-se que a variável P maior= 1,000 no nível de significância : 0,05 (tabela 6), com isso a hipótese de igualdade das médias não foi rejeitada, portanto pode-se dizer que há evidências ao nível de significância de 5% que a absorção de arsênio entre as amostras das plantas não diferem estatisticamente, que pode ser observado no intervalo abaixo de 95% de confiança para a quantidade média de absorção de

acordo com o tempo. Quando se tem um ponto comum entre os intervalos significa que as médias não diferem.

A absorção do arsênio pela *Lemna minuta* em pH 7,0 (Figura 5.22) mostrou uma grande variação durante todo o experimento. A curva que melhor representa a absorção é a 1B, pois ela vai decrescendo com o passar dos dias. O aumento na concentração do 8º ao 11º dia pode ser devido à contaminação. A curva 1A apresenta picos de baixa e alta sucessivas, mas vai decrescendo com o passar dos dias. As curvas mostram que a *Lemna* absorve bem o arsênio. A absorção vai aumentando lentamente até o décimo primeiro dia. Neste dia há possibilidade de ter havido algum tipo de contaminação. Desde então, observou-se um aumento rápido na absorção.

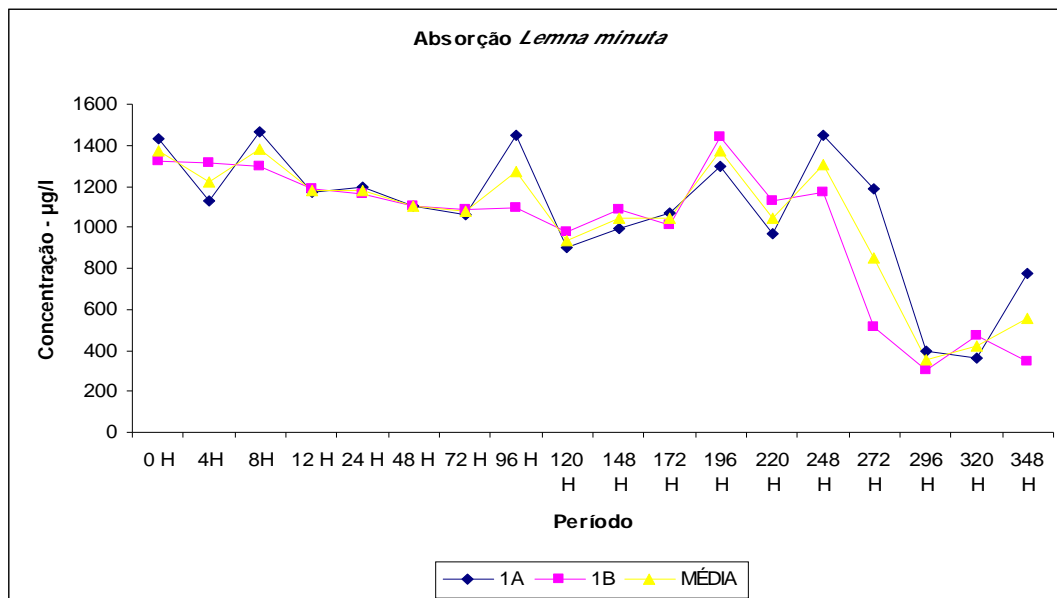


Figura 5.22: Absorção de arsênio por *Lemna minuta* em pH 7,0

De acordo com a análise estatística **One Way Anova** verificou-se que a variável P maior foi menor (0,0) que o nível de significância : 0,05 (tabela 7), com isso a hipótese de igualdade das médias foi rejeitada, portanto pode-se dizer que há evidências ao nível de significância de 5% que a absorção de arsênio entre as amostras das plantas diferem estatisticamente, que pode ser observado no intervalo abaixo de 95% de confiança para a quantidade média de absorção de acordo com o tempo. Quando se tem um ponto comum entre os intervalos significa que as médias não diferem e quanto não há pontos em comum significa que se diferem.

5.4.2. Absorção em pH 5,5.

Os gráficos das figuras de 5.23 e 5.24 apresentam a acumulação do arsênio pelas duas espécies estudadas *Spirodela intermedia* e *Lemna minuta*, em pH 5,5.

A *Spirodela intermedia* (figura 5.23) tem as curvas 1A e 1B apresentando os melhores resultados. Alguns picos com reduzida variação são observados. No entanto, a curva 1C apresenta picos de variação bastante evidentes, que podem ser relacionados a uma possível contaminação.

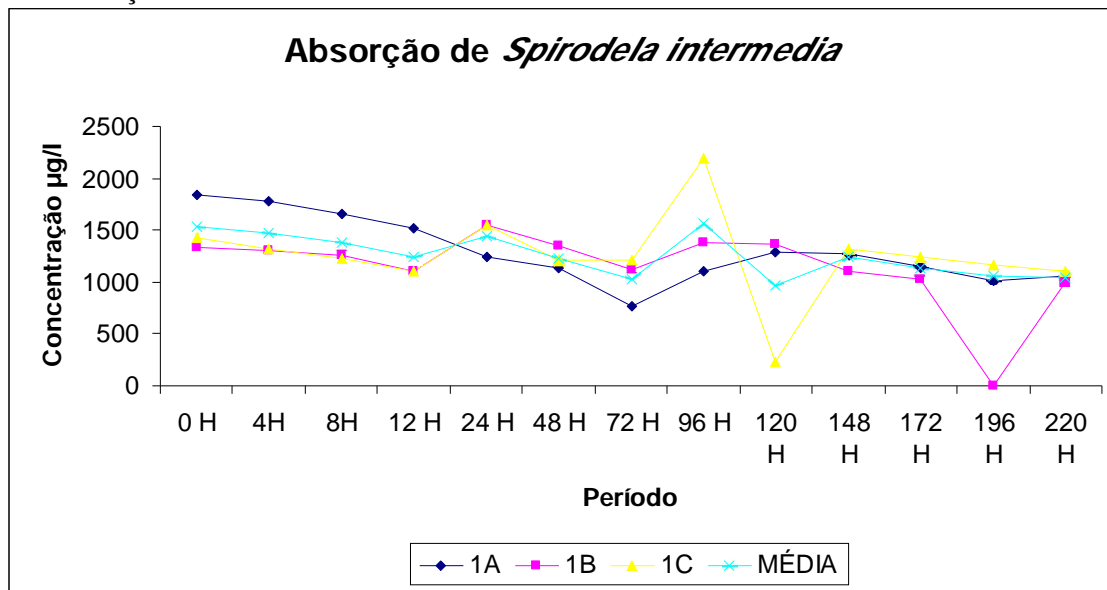


Figura 5.23: Absorção de arsênio por *Spirodela intermedia* em pH 5,5

De acordo com a análise estatística **One Way Anova** verificou-se que a variável P maior foi maior (0,204) que o nível de significância : 0,05 (tabela 8), com isso a hipótese de igualdade das médias não foi rejeitada, portanto podemos dizer que há evidências ao nível de significância de 5% que a absorção de arsênio entre as amostras das plantas não diferem estatisticamente, que pode ser observado no intervalo abaixo de 95% de confiança para a quantidade média de absorção de acordo com o tempo. Quando se tem um ponto comum entre os intervalos significa que as médias não diferem.

A *Lemna minuta* em pH 5,5 apresenta uma grande absorção de arsênio. (Figura 5.24).

No primeiro dia do experimento, a planta absorveu pouco arsênio. No segundo dia houve uma diminuição considerável na concentração e no terceiro dia elevou que pode estar relacionado a uma possível contaminação. No quarto dia houve um grande declínio e a partir deste dia, a concentração permaneceu constante e se estabilizou.

Pelo aspecto da curva, pode-se inferir que no terceiro dia, a absorção de arsênio atingiu o ponto máximo de absorção.

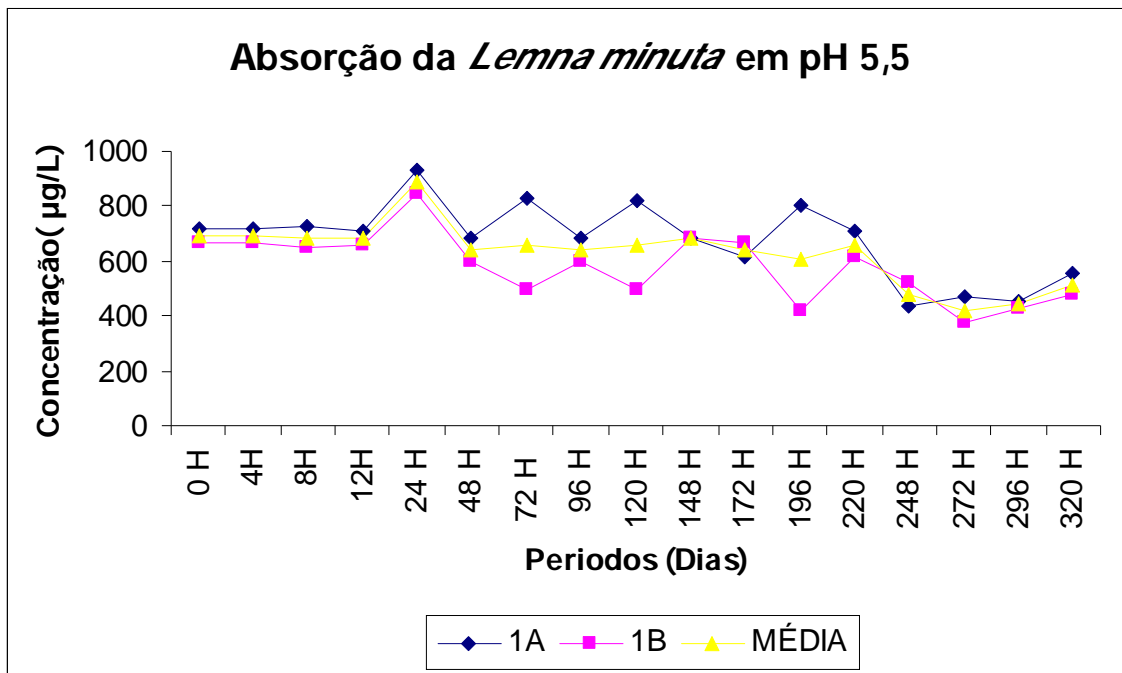


Figura 5.24: Absorção de arsênio por *Lemna minuta* em pH 5,5

De acordo com a análise estatística **One Way Anova** verificou-se que a variável P maior foi maior (0,0) ao nível de significância : 0,05, (tabela 9) confirmando a hipótese de igualdade das médias, portanto pode-se dizer que há evidências ao nível de significância de 5%, que a absorção de arsênio entre as amostras das plantas não diferem estatisticamente, que pode ser observado no intervalo abaixo de 95% de confiança para a quantidade média de absorção de acordo com o tempo. Quando se tem um ponto comum entre os intervalos significa que as médias não diferem e quanto não há pontos em comum significa que se diferem.

5.4.3. Influência do pH na absorção de Arsênio pela *Spirodela intermedia*.

O gráfico da figura 5.25 mostra o perfil da absorção do arsênio nos pHs 5,5 e 7,0, para a *Spirodela intermedia*. Observou-se que em pH 7,0 há um índice de variação bem menor na absorção, quando comparada com o pH 5,5.

De acordo com o gráfico, verifica-se que não houve uma grande diferença entre os pHs. Entre o segundo e o terceiro dia, no pH 5,5 observa-se um decréscimo significativo na concentração, sugerindo o pico máximo de absorção do arsênio. Mas, o aumento da concentração é em seguida observado, o que pode inferir por uma pequena contaminação.

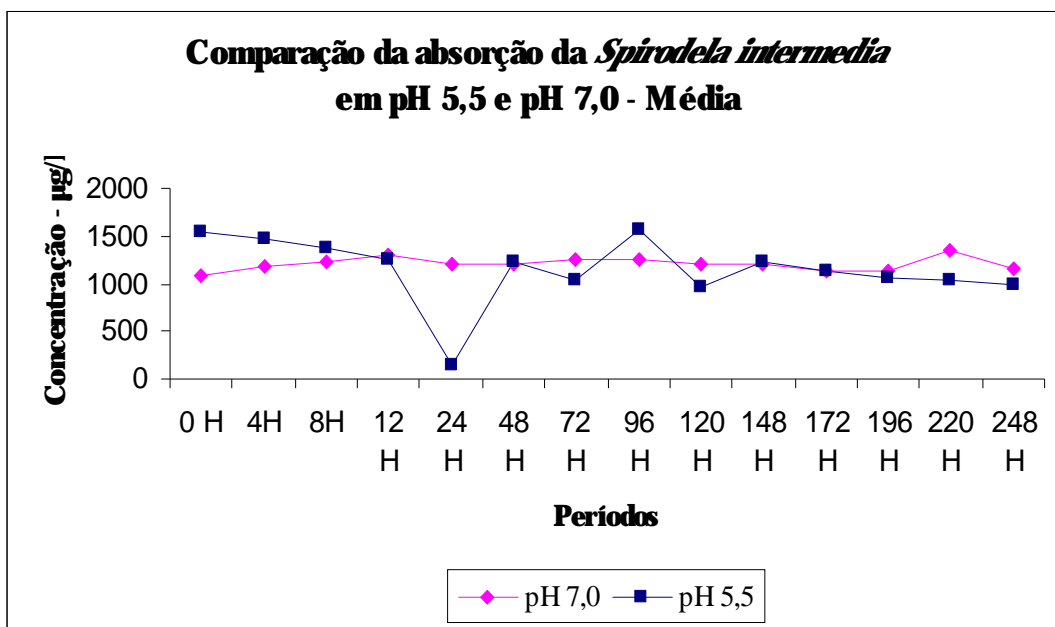


Figura 5.25: Comparação da media da absorção da *Spirodela intermedia* em pH 5,5 e pH 7,0

De acordo com a metodologia **Two-way Anova** na comparação entre os pHs de acordo com o resultado P maior (0,929) do pH, de (0,964) de amostra verifica-se que não há diferença de absorção nos diferentes pHs, e nas diferentes amostras, como pode ser observado na tabela 10.

5.4.4. Influência do pH na absorção de Arsênio pela *Lemna minuta*

O gráfico da figura 5.26 mostra o perfil da absorção do arsênio nos pHs 5,5 e 7,0, para a *Lemna minuta*. Analisando o perfil apresentado verifica-se que houve diferença entre os pHs.

Para esta planta, o melhor pH de absorção foi o 5,5, conforme revela a análise do gráfico.

Nas primeiras oito horas de experimento, as plantas apresentaram um comportamento semelhante de absorção, mas, a partir da décima segunda hora, seus comportamentos foram bem diferenciados. O pH 7,0 teve uma constância até o décimo primeiro dia e após uma pequena queda. No segundo dia, em pH 5,5 houve um aumento brusco na absorção e após, permaneceu constante, o que sugere o ponto máximo de absorção.

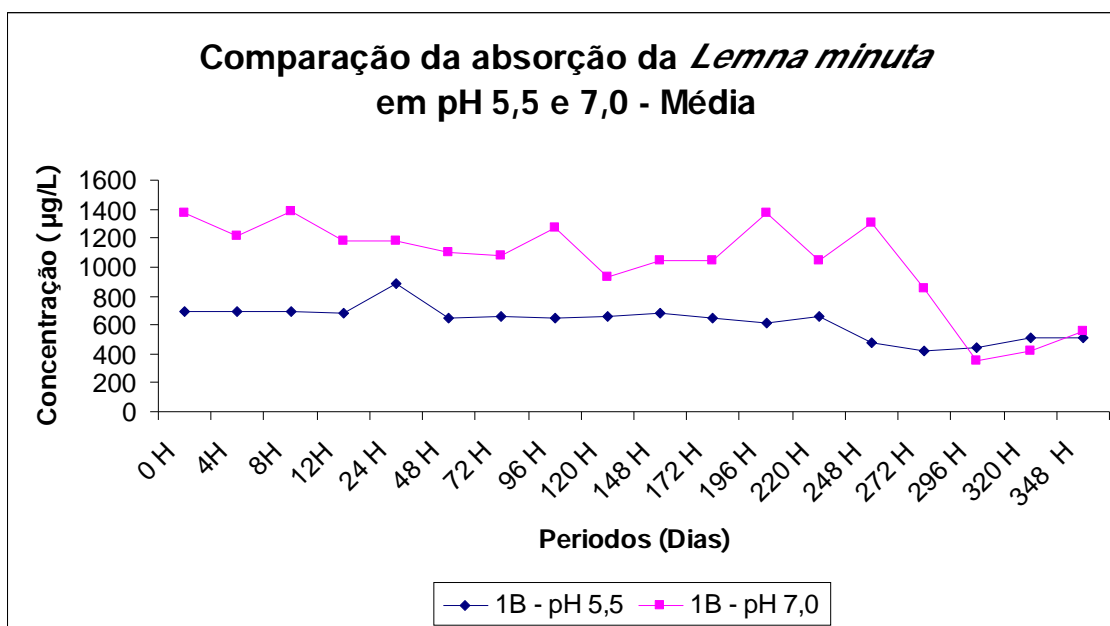


Figura 5.26: Comparação da média da absorção da *Lemna minuta* em pH 5,5 e pH 7,0

De acordo com a metodologia **Two-Way ANOVA** na comparação entre os pHs de acordo com o resultado de P maior verifica-se que não há diferença de absorção nos diferentes pHs, e nas diferentes amostras (tabela 11).

Plantas classificadas como acumuladoras acumulam entre 100 a 1000 µg/L e hiperacumuladoras acumulam acima de 1000 µg/L. (Brooks, 1983)

Baseado nesse critério, a *Lemna minuta* e *Spirodela intermedia*, estudada neste trabalho demonstraram serem espécies acumuladoras.

Vários estudos têm demonstrado que as macrófitas aquáticas, em especial espécies dos gêneros *Lemna* e *Spirodela* são consideradas como sendo ótimos filtros biológicos (Sutton, 1975), e que têm um potencial muito grande para remoção de contaminantes do meio, inclusive arsênio, como foi confirmado no presente trabalho, para a *Lemna minuta* e *Spirodela intemedia*

Sabe-se que a família Lemnaceae possui grande potencial para ser utilizada em processos biotecnológicos (Landolt, et al 1987), incluindo remoção de nutrientes ou metais pesados da água (Fujita et al., 1999) e o uso em tratamentos de água (Bergmann et al., 2000) e com isso podem ser empregadas em fitorremediação de áreas contaminadas. Destaca-se a família Lemnacea, objeto deste trabalho como acumuladora de arsênio. (Jain *et al.*, 1990; Zayed *et al.*, 1998; Axtell *et al.*, 2003; Mkandawire e Dudel, 2005)

Estudos que utilizem Lemnaceae como bioindicadoras também são importantes, uma vez que o emprego de espécies vegetais como bioindicadoras de poluentes, *in situ*, na avaliação dos níveis de poluição, tem vantagens em relação aos métodos físico-químicos, devido à redução significativa dos custos. Além disso, as espécies vegetais por constituírem parte do meio ambiente biológico são influenciadas pelos poluentes e suas reações podem ser avaliadas (Esteves, 1998).

Guimarães *et al.*, 2007 comparou a absorção pelas espécies *Salvinia mínima*, *Lemna gibba* e *Azolla caroliniana* em pH 6,5 detectando que *L. gibba* foi considerada hiperacumuladora de arsênio.

Aksorn. e Visoottiviseth, 2004 em seu estudo comparou a absorção do arsênio em pH 5,5 pelas espécies *Typha spp*, *Canna spp*, *Colocasia esculenta*, *Heliconia psittacorum* e *Thalia dealbato J.* e verificou que *C. esculenta* foi a macrófita que melhor absorveu o arsênio.

5.4.5 Teor de arsênio na biomassa.

Para avaliar o teor de arsênio na biomassa da *Spirodela intermedia* e da *Lemna minuta* calculou-se a diferença entre os teores inicial e final de arsênio na solução e a porcentagem de absorção. (Tabela 12).

Tabela 12: Comparação dos teores de arsênio na solução e na biomassa

MACRÓFITAS E SEUS PHS	AMOSTRA	CONCENTRAÇÃO INICIAL - (CI) µg/L	CONCENTRAÇÃO FINAL - (CF) µg/L	CF - CI µg/L	CONCENTRAÇÃO BIOMASSA µg/L	PORCENTAGEM ACUMULAÇÃO µg/L
<i>Spirodela intermedia</i> pH 5,5	1 A	1835,38	1050,9	784,48	760,58	41,43 %
	1 B	1333,98	990,9	343,08	694,63	52,02 %
	1 C	1430	1100	330,0	711,04	49,72 %
<i>Spirodela intermedia</i> pH 7,0	1 A	1019	419,0	600,00	550,60	54,00 %
	1 B	1090	535,0	550,00	516,70	47,00 %
	1 C	1141,7	551,0	590,00	559,88	48,81 %
<i>Lemna minuta</i> pH 5,5	1 A	721,11	556,63	164,48	175,75	24,00 %
	1 B	666,08	474,53	191,55	150,64	22,00 %
<i>Lemna minuta</i> pH 7,0	1 A	1430,18	774,69	665,49	689,50	48,21 %
	1 B	1319,64	342,49	995,15	603,07	45,00 %

O experimento com *Lemna minuta* foi feito apenas em duplicada, devido esta planta apresentar um tamanho reduzido, conseguindo ter um bom crescimento, porém não formando uma quantidade expressiva para o experimento.

No experimento da macrófita *Spirodela intermedia* em pH 5,5, os teores acumulados de arsênio na biomassa em A, B e C foram respectivamente, 784,48 µg/L de As, 343,08 µg/L de As e 330,0 µg/L de As.

Comparando os teores de arsênio acumulado na biomassa (760,58 µg/L) e a diferença da solução final e inicial (784,48 µg/L de As) no experimento 1A verificou-se que os resultados são compatíveis, ou seja, o teor de arsênio acumulado pela planta é semelhante à diferença entre as concentrações inicial e final.

Nos experimentos 1B e 1C verifica-se uma diferença entre os teores acumulados na biomassa, 694,63 µg/L e 711,04 µg/L, e o que restou na solução, 343,08 µg/L e 330,1 µg/L respectivamente. A lavagem com ácido nítrico 1% não sendo feita adequadamente, o arsênio adsorvido pela raiz não foi retirado.

No experimento com a macrófita *Spirodela intermedia* em pH 7,0, os teores de arsênio acumulados na biomassa e na solução foram respectivamente em A: 550,60 µg/L e 600,00 µg/L; B: 516,70 µg/L e 550,0 µg/L e em C: 559,00 µg/L e 590,00 µg/L. Verificando uma compatibilidade entre os resultados.

O experimento com *L. minuta* em pH 5,5 apresenta teores de arsênio na solução final de 556,63 µg/L, e 474,53 µg/L de As, para os experimentos A e B respectivamente.

Comparando os teores de arsênio acumulado na biomassa do experimento A, verificou-se que os resultados são compatíveis, pois o que foi encontrado na biomassa foi a concentração de (175,75 µg/L de As) e a diferença da solução inicial e final é de (164,48 µg/L).

No experimento 1B também não houve diferença entre os valores acumulados na biomassa (150,64 µg/L de As) e da diferença entre concentração inicial e final (191,55 µg/L de As).

O experimento com *L. minuta* em pH 7 apresenta teores de arsênio na solução de 655,49 µg/L de As e 995,15 µg/L de As, para os experimentos A e B respectivamente. Comparando os teores de arsênio acumulado na biomassa (689,50 µg/L de As) e a diferença da solução (655,49 µg/L de As) no experimento 1A verificou-se que os resultados são compatíveis.

No experimento 1B houve diferença entre os valores acumulados na biomassa (603,07 µg/L de As) da solução (995,15 µg/L de As). De acordo com os resultados, a planta deveria ter absorvido mais arsênio. Isso sugere que o arsênio poderia estar fixado nas raízes, se perdendo por ocasião da lavagem com ácido nítrico a 1%.

De uma maneira geral, os resultados obtidos indicam a presença de arsênio na biomassa. A literatura mostra que o mesmo pode ser absorvido (Graeme e Pollack, 1998; Lasat, 2002; Dembitsky e Rezanka, 2003; Aksorn e Visoottiviset, 2004; Mkandawire e Dudel, 2005) e/ou adsorvido (Zayed *et al.*, 1998; Qian *et al.*, 1999; Zhu *et al.*, 1999). Esta propriedade justifica as variações obtidas na quantificação do arsênio durante o experimento.

Segundo Brooks, 1983, as espécies do estudo *Lemna minuta* e *Spirodela intemediá* podem ser classificadas como acumuladoras, pois acumulam arsênio na faixa entre 100 a 1000 µg/L.

A *Spirodela intemediá* apresenta absorção média para o pH 5,5 de 47,72% e do pH 7,0 de 52,02%. E a *Lemna minuta* para o pH 5,5 de 23% e para o pH 7,0 de 46%.

De acordo com a comparação das porcentagens de absorção verificou-se que a macrófita que apresenta melhor absorção de arsênio é a *Spirodela intemediá* em pH 7,0. E a que apresenta menor porcentagem de absorção é a *Lemna minuta* em pH 5,5.

CAPITULO 6

CONCLUSÕES

As quatro espécies de macrófitas avaliadas neste estudo apresentaram comportamentos diferentes quanto ao crescimento, considerando as massas seca e fresca.

As macrófitas *Spirodela intermedia* e *Lemna minuta* apresentaram maior perfil de crescimento nas condições do experimento.

A presença do arsênio não interfere no crescimento das plantas, mas observaram-se danos foliares, deixando-as amareladas.

As espécies do estudo *Lemna minuta* e *Spirodela intemedia* podem ser classificadas como acumuladoras, pois acumulam arsênio na faixa entre 100 a 1000 µg/L.

A macrófita *Spirodela intemedia* em pH 7,0 obteve maior acumulação de arsênio

Lemna minuta em pH 5,5 obteve menor acumulação de arsênio.

CAPITULO 7

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADLER, P. R., SUMMERFELT, S. T., GLENN, D. M., E TAKEDA, F. 2003. Mechanistic approach to phytoremediation of water. *Ecological Engineering* 20:251-264.

AKSORN, E., E VISOOTTIVISETH, P. 2004. Selection of suitable emergent plants for removal of arsenic from arsenic contaminated water. *ScienceAsia* 30:105-113.

ALLAN, J.E. The preparation of agricultural samples for analysis by atomic absorption spectrometry. Varian Techtron, 1969. 15 p.

ALLOOWAY, B.J. 1993. Heavy Metals in Soil. JohnWilwy e Sons Inc., New York. 553p.

ALVES, E; CARDOSO, L.R; SAVRONI, J; L.R, FERREIRA, L.C; BOARO, C.S.F; CATANEO, A.C. Avaliações Fisiológicas e Bioquímicas de Plantas de Aguapé (*Eichhornia Crassipes*) cultivadas com níveis excessivos de nutrientes. *Planta Daninha*, 2003, Vol.21

AOCENA, R.; MAZZE, O. Macrófitas acuáticas de un arroyo urbano en Uruguay: su relacion com la calidad del agua. *Ver. Biol. Trop.*, v.2, p. 723-728, 1994

APESTEGUIA, C.; MARTA, J. Produccion de perifiton en ambientes acuáticos dek rio Paraná médio, II; medicion de la velocidad de produccion media y instantânea. *Rev. Assoc. Ci. Nat. Litoral*, v. 10, p. 39-48, 1979.

AXTELL, N. R., STERNBERG, S. P. K., E CLAUSSEN, K. 2003. Lead and nickel removal using *Microspora* and *Lemna minor*. *Bioresource Technology* 89:41-48.

BARKER, A. J. M., MCGRATH, S. P., REEVES, R. D., E SMITH, J. A. C. 2000. Metalhyperaccumulator plants: A review of the ecology and physiology of a biological resource for phytoremediation of metal-polluted soils. In Terry, N., e Bañuelos, G. *Phytoremediation of contaminated soil and water*. Lewis Publishers, Boca Raton, Flórida.

BERGMANN B. A., CHENG J., CLASSEN J. & STOMP A. M. (2000). In vitro selection of duckweed geographical isolates for potencial use in swine lagoon effluent renovation. *Bioresour. Technol.* 73:13-20.

BONETTO, A.A.; WAIS, I.R. The Paraná river in the framework of modern paradigms of fluvial systems. *Acta Lemnol. Brasil.*; v.7.p.139-172. 1990.

BORBA R. P, FIGUEIREDO B. R., RAWLINS B., MATSCHULLAT J. 2000. Arsenic in water and Sediment in the Iron Quadrangle, State of Minas Gerais, Brazil, *Applied Geochemistry*, 15: 181-190.

BORBA R. P, FIGUEIREDO B. R.,CAVALCANT.J.A. 2004. Arsênio na água subterrânea em Ouro Preto e Mariana, Quadrilátero Ferrífero (MG), R.Escola de Minas, Ouro Preto, 57(1): 45-51, jan.mar.2004

BORBA, R.P.2002 Arsênio em ambiente superficial: processos geoquímicos naturais e antropogênicos em uma área de mineração aurífera. 111p. (Tese de doutorado. Instituto de Geociências, Universidade Estadual de Campinas)

BROOKS R.R. 1983. *Biological methods of prospecting for minerals*. Wiley Interscience, New York.322p

CAI Y., SU J. & MA L. Q.2004. Low molecular weight tilos in arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* upon exposure to arsenic and other trace elements. *Environmental pollution*, 129:69-78

CAKMAK, I.; WELCH, R.M.; HART, J.; NORVELL, W.A.; OZTURK, L. & KOCHIAN, L.V. Uptake And Retranslocation Of Leaf-Applied Cadmium (¹⁰⁹cd) In Diploid, Tetraploid And Hexaploid Wheats. *Journal Of Experimental Botany*, 51:221-226, 2000

CEDERGREEN, N., STREIBIG, J. C., E SPLIID, N. H. 2004. Sensitivity of aquatic plants to the herbicide metsulfuron-methyl. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 57:153-161.

CONAMA. 2005. Resolução nº 357, de 17 de março de 2005: Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamentos.

COOK, C.D.K. 1990. Aquatic Plant Book. Amsterdam. 1996. 228 p.

CRONQUIST, A. 1981. A integrated system of classification of flowering plants. New York: Columbia University Press. 1262p.

CUNNINGHAM, SD; ANDERSON, TA; SCHWAB, A. P. Phytoremediation Of Soils Contaminated With Organic Pollutants.. Adv. Agron. (56) p.55 (1996)

DEMBITSKY, V. M., E REZANKA, T. 2003. Natural occurrence of arseno compounds in plants, lichens, fungi, algal species, and microorganisms. Plant Science 165:1177-1192.

DENNIS, W, M. AQUATIC MACROPHYTON SAMPLING. AN OVERVIEW. IN: DENNIS, W.M., ISOM, B.G. (EDS) Ecological Assessment of macrophyton: collection, use, and meaning of data. ASTM STP 843, American Society for Testing and materials, p. 2-6, 1984

DESCHAMPS, E., CIMINELLI, V. S. T., LANGE, F. T., MATSCHULLAT, J., RAUE, B., E SCHMIDT, H. 2002. Soil and sediment geochemistry of the Iron Quadrangle, Brazil: The Case of Arsenic. Journal of Soils and Sediments 2:216-222.

DUMORTIER, B.C.J. 1827. Florula Belgica. J. Casterman, Tournay.

ENGLER, A. 1877. Vergleichende Untersuchungen Über Die Morphologischen Verhältnisse Der Araceae. Nov. Acta Acad. Caesar. Leop. Carol. 39:159-232. em Pott V. J. & Cervi A. C. (1999). A Família Lemnaceae Gray no Pantanal (Mato Grosso e Mato Grosso do Sul), Brasi. Revista Brasil. Bot. 22:153-174.

ESTEVEES F. A. (1998). Fundamentos de Limnologia. 2ªEd. Rio de Janeiro.

Interciência/FINEP. Estudos de Biologia 26:5-24.

ESTEVEES, F.A.; NOGUEIRA, F. The influence of floating meadows and hydrological cycle on the main abiotic chareteristics of a tropic al oxbow lake. Eco. Brasiliensis, v. 1, p.117-128, 1995

EUGLER, A. Syllabus der pflanzenfamiliern. Berlin: Gebr.Borntrager, v.2, p. 596-598, 1964

EUTÉRIO L. 1997. Diagnóstico da situação ambiental da cabeceira da bacia do Rio Doce, MG. No âmbito das contaminações por metais pesados, em sedimentos de fundo. Departamento de geologia, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto. Dissertação de Mestrado, 154p.

FINLAYSON, C. M. 1984. Growth of *Salvinia molesta* in lake Moondarra, Mout Isa, Australia. Aquatic Botany. 18, 257-262.

FONT QUER, P. Diccionário de botânica. Barcelona; Labor; 1953. 1244 p

FUGITA M., MORI K. & KODERA T. (1999). Nutrient removal and starch production through cultivation of arriza. J. Biosci. Bioeng.87:194-198.

GADELHA, C. L. M.; WATANABE, T.; SILANS, A.M.P. Liberação de nutrientes inorgânicos durante o processo de decomposição de *Ludwigia natans* (EII) (Dicotiledônea: Onagraceae) e de *Salvinia auriculata* (Aubl) (Pteridophyta: Salviniácea) Acta Limnol. Brasil.; v.3, p.633-652, 1990

GANTES, H.P.; TUR, N.M. Variacion temporal da la vegetacion em um arroyo de llanura. Ver. Brasil. Biol., v.55, p.259-266, 1995

GLASS, D.J United States Market for Phytoremediation, D. Glass Associates, Needham, p. 139 (1998)

GONÇALVES J.A.C., PEREIRA M.A., LENA J.C., PAIVA J.F.2005 O arsênio nas águas subterrâneas de Ouro Preto, MG. In: Workshop Internacional de Geomedicina.

GRAEME, K. A., E POLLACK, C. V. JR. 1998. Heavy metal toxicity, Part I: arsenic and mercury.

GRANT, C.A.; BUCKLEY, W.T.; BAILEY, L.D. & SELLES, F. Cadmium accumulation in crops. , Canadian Journal of Plant Science 78:1-17, 1998.

GRAY, S.F. 1821. Lemnadae. In A Natural Arrangement Of British Plants, V.2, P.729-730.

GRIMALT, J. O., FERRER, M., E MACPHERSON, E. 1999. The mine tailing accident in Aznalcollar. The Science of the Total Environment 242:3-11.

GUIMARÃES, F. P. ; GOMES, C. Q. ; MAGALHÃES, A. B. S. ; FREITAS, T. V. ; AGUIAR, R. ; OLIVEIRA, J. A. . Estudos Laboratoriais de Acúmulo e Toxicidade de Arsênio em *Eichhornia crassipes* e *Salvinia auriculata*. Journal Of The Brazilian Society Of Ecotoxicology, Brasil, v. 1, n. 2, p. 109-113, 2006.

GUIMARÃES, F. P. ; GOMES, C. Q; MAGALHÃES, A. B. S; FREITAS, T. V; OLIVEIRA, J. A &. AGUIAR, R. Estudos Laboratoriais de Acúmulo e Toxicidade de Arsênio em *Eichhornia crassipes* e *Salvinia auriculata*. J. Braz. Soc. Ecotoxicol., v. 1, n. 2, 2006, 109-113

GUIMARÃES, F. P. ; AGUIAR, R. ; OLIVEIRA, J. A. ; KARAM, D. ; SANT ANNA-SANTOS, B. F. . Potential of macrophytes for removing atrazine from aqueous solution. Aquatic Botany, 2007.

GOODLANG R. & FERRI M.G. 1979. Ecologia do Cerrado. Editora da Universidade de São Paulo, São Paulo. 193p

HARIDASAN M.2000. Mineral nutrition in plants native to the Brazilian savanna (cerrado region). Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal, 12: 54-64

- HAUSTEIN, A. T., GILMAN, P. W., SKILLICORN, P. W. & VERGARA, V. (1990).
Duckweed, a useful strategy for feeding chickens: Performance of layers fed with sewage
grown Lemnaceae species. *Polt. Sci.* 69: 1835- 1844.
- HOAGLAND, D. R., E ARNON, D. I. 1950. The water - culture method for growing plant
without soil. University of California, Berkeley.
- JAIN, C. K., E ALI, I. 2000. Arsenic: Occurrence, toxicity and speciation techniques. *Water
Research* 34:4304-4312.
- JOLY A. B. (2002). *Botânica: Introdução a taxonomia vegetal*. 13ª Ed. Companhia Editora
Nacional.
- LANDOLT, E. & KANDELER, R. 1987. Biosystematic Investigations In The Family Of
Duckweeds (Lemnaceae) - The Family Of Lemnaceae - A Monographic Study V.2. Veröff.
Geobot. Inst., Zürich 95:1-638.
- LARCHER, W., 2000, *Ecofisiologia vegetal*. RiMa Editora, São Carlos, 531p.
- LASAT, M. M. 2002. Phytoextraction of toxic metals: A review of biological
mechanisms. *Journal of Environmental Quality* 31:109-120.
- LEVITT J. 1980. Responses of plants to environmental stresses. Vol.II: Water, radiation, salt
and other stresses. 2 edition. Academic Press. 606p
- LINNÉ, C. 1753. *Species Plantarum*. Impensis Laurentii Salvii, Stockholm, V.2, P. 970-971.

(Lisboa, et al, 1993).
- MAIA NETO, R.F. Água para o desenvolvimento sustentável. *A Água em Revista*, Belo
Horizonte, n.9, p.21-32, 1997

MATSUMARA-TUNDISI, T.; TUNDISI, S. G. Pankton studies in a lacustrine environment. I. Preliminary data on zooplankton ecology of Broa Reservoir. *Occologia*, v.25, p. 265-270, 1976

MAZZEO, N.; CROSA, D.; SOMMARUGA, R. Productividad y variacion estacional da la biomassa de *Pistia stratiotes* L. em el reservatório del Cisne, Uruguai. *Acta Limnol. Brasil.*, v. 6, p. 186-195, 1993

MEHARG AA. AND MACNAIR MR (1990) An altered phosphate uptake system in arsenate-tolerant *Holcus lanatus* L. *New Phytol* 116. 29 -35

MELCHIOR, H. & WERDERMANN, E.1964. Engler's Syllabus Der Pflanzenfamilien. Gebr. Bornträger, Berlin, 2:596-598.

MENEZES, C. F.; ESTEVES, F.A.; ANÉSIO, A.M. Influencia da variação artificial do nível da água da represa do Lobo (SP) sobre a biomassa e produtuvidade de *Nymphoides indica* (L) O. Kuntze e *Pontederia cordata* (L) *Acta Limnol. Brasil.*; v.6, p.163-172, 1993

MICHELI, P.A. 1729. *Nova Plantarum Genera*. Typis Bernardi Paperinii, Florentiae em Pott
V. J. & Cervi A. C. (1999). A Família Lemnaceae Gray no Pantanal (Mato Grosso e Mato Grosso do Sul), Brasi. *Revista Brasil. Bot.* 22:153-174.

MILTON A.H., HAZAN Z., RAHMAN A., RAHAMAN M. 2001. Chronic arsenic poisoning and respiratory effects in Bangladesh. *Jorurnal Occupational Health*, 43: 136-140

MIRETZKY, P.; SARAKEGUI, A.; FERNANDES C.A. Aquatic macrophytes potenciaa for the simultaneous removal of heavy metals. Centro de Estudios Tradisciplinares del Agua, Faculdade de Ciencias Veterinárias, Universidad de Buenos Aires, Chorroarin (2003) 280, (1427) Buenos Aires, Argentina

MKANDAWIRE, M., E DUDEL, E. G. 2005. Accumulation of arsenic in *Lemna gibba* L.(duckweed) in tailing waters of two abandoned uranium mining sites in Saxony, Germany. The Science of the Total Environment 336:81-89.

MOSCHINI_CARLOS, V.; POMPEO, M. L. M.; SOARES, J.J. Fenologia de *Scirpus cubensis*. Poetr & Kunth na lagoa do Infernã (Estação Ecológica Jataí). Luiz Antônio, SP. Acta Limnol. Brasil.; v.7, p.1-9, 1995

NECCHI, J. O.; BRANCO, C.C.Z.; SIMÃO, R.C.G.; BRANCO,L.H.Z. Distribution of stream macroalgae in the northwest region of São Paulo state, southeastern Brazil., Hydrobiologia, v.299, p.219-230, 1995.

NECCHI, J. O.; BRANCO, L. H.Z. Preliminary evoluatin of primary production in a stream of São Paulo State, southeastern of Brazil. Rev. Brasil. Biol., v. 52, n 2, p.319-319, 1992.

NEIFF, J.J. Aquatic plants of Paraná System. In: Davies, B.R.; Walker . K. F. (eds). The ecology of river systems. The hague, Dr. W. Junk, p.557-571, 1986.

NOGUEIRA, F., ESTEVES, F.A. Variação temporal da biomassa de duas espécies de macrófitas aquáticas em uma lagoa marginal do rio Mogi-Guaçu (SP) Acta. Limnol.Brasil., V. 3, p,. 617-632, 1990

OLIVEIRA, J, A; CAMBRAIA, J; CANO, M,A,O; JORDÃO, E,C,P - Absorção e acúmulo de Cádmiio e seus efeitos sobre o crescimento relativo de plantas de aguapé e de *Salvília*. Rev. Bras. Fisiol. Veg. vol.13 no.3 Lavras,2001

PASTORE, P.M.; TUR, N.M.; MARRONE, M.T. Biomassay productividade primaria de macrofitos no emergente de una laguna y sur afluyente (Província de Buenos Aires). Ver. Brasil. Biol., v.55, p. 267-281, 1995

PAZ, V. P. S.; TEODORO, R. . F.; MENDONCA, F. C.. Recursos hídricos, agricultura irrigada e meio ambiente. Rev. bras. eng. agríc. ambient. , Campina Grande, v. 4, n. 3, dez. 2000 .

- PEDRALLI G. (1990). Macrófitos aquáticos: técnicas e métodos de estudos. . Revista Agros, Porto Alegre 83:45-51.
- PEDRALLI G. (2001). Biprospção em áreas úmidas de Minas Gerais, Brasil. In: Programas e Resumos do XXIII Encontro de Botânicos SBB – Região MG, BA, ES:Bioprospção e Alternativas para o novo Milênio. Viçosa. Universidade Federal de Viçosa.
- PEDRALLI G., IRANG B. E. & PEREIRA C. P. (1985). Macrófitas aquáticos do município de Rio Grande, Rio Grande do Sul, Brasil. Revista Agros, Porto Alegre 20:45-51.
- PEDRALLI, G.; MEYER,S.T.; TEIXEIRA, M.C.; STEHMANN, J.R. Levantamento de macrófitos aquáticos e da mata ciliar do reservatório de Volta Grande, Minas Gerais, Brasil. Iheringia, v.43, p. 29-40, 1993
- PIEIDADE, M.T.F. Biologia e ecologia de *Echinochloa polystachya* (H.B.K) Hitchcock (Graminae=Poacea), capim semi-aquático da várzea amazônia. Acta Limnol. Brasil.; v.6, p.173-185, 1993.
- PILON-SMITS, E. 2005. Phytoremediation. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 56:15-39.
- PILON-SMITS, E., E PILON, M. 2002. Phytoremediation of metals using transgenic plants. Critical Reviews in Plant Science 21:439-456.
- PIMENTEL. H, LENA JC, NALINI JR HÁ. 2003. Studies of water quality in the Ouro Preto region, Minas Gerais, Brazil: the release of arsenic to the hydrological system. Environmental Geology, 43:725-730.
- POMPEO,.L.; MOSCHINI-CARLOS, V. Zonação e biomassa das macrófitas aquáticas na lagoa Dourada (Brotas, SP), com ênfase na *Utricularia gibba* (L) Acta Limnol. Brasil.; v.7, p.78-86, 1995
- POTT, V.J. (1993). A família Lemnaceae S.F. Gray no Pantanal (Mato Grosso e Mato Grosso

do Sul), Brasil. Tese de Mestrado, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

POTT V. J. & CERVI A. C. (1999). A Família Lemnaceae Gray no Pantanal (Mato Grosso e Mato Grosso do Sul), Brasi. Revista Brasil. Bot. 22:153-174.

PROJETO ÁGUA. Ecossistemas aquáticos. [www2.rantac.com.br/ cardeal/Projeto Agua. htm](http://www2.rantac.com.br/cardeal/Projeto_Agua.htm).
1998 Acessado em 15 de novembro de 2008

QIAN, J.-H., ZAYED, A., ZHU, Y.-L., YU, M., E TERRY, N. 1999. Phytoaccumulation of trace elements by wetland plants: III. Uptake and accumulation of ten trace elements by twelve plant species. Journal of Environmental Quality 28:1448-1455.

RAGHOTHAMA, K. G. 2000. Phosphate transport and signaling. Current Opinion in Plant Biology 3:182-187.

RAUNKIAER, C. 1934. The Life Forms of Plants and Statistical Plant Geography. Oxford, Claderon Press.632p.

RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; EICHHORM, S.E. (1996) Plantas Vasculares. Biologia Vegetal. Editora Guanabara Koogan S.AA.pp.295-327
Russof, L. L., Blakeney, E. W. Jr. & Culley, D. D. Jr. (1980) Duckweeds (Lemnaceae family): A Potential source of protein and amino acids. J. Agric. Food Chem. 28: 848-850.

REIS, S.P.; BARBOSA, F.A.R. Estudo da composição de macrófitas aquáticas da lagoa dos Mares, município da Lagoa Santa, com ênfase nos aspectos ecológicos de *Salvinia herzogii* (Aubl) Acta Limnol. Brasil., v. 6, p. 196-208, 1993.

ROLLA, M. E.; ROSA, S.G.; FREITAS, O. M. C.; GOMES, M.C. S.; JUNQUEIRA, M.V.; SOUZA, M.L.G. Composição físico-química e biológica do sedimento do reservatório de Volta Grande, Minas Gerais/São Paulo. Acta Lemnol.Brasil., v.3, p.3.201-208, 1990.

RUSSOF, L. L., GANTT, D. T., WILLIAMS, D. M.& GHOLSON, J.H. (1978). Duckweeds a potencial feedstuff for catle. *J. Dairy Science* 60: 161-170.

SCHNEIDER, I.A.H. Biossorção de Metais Pesados com Biomassa de Macrófitas Aquáticas. Porto Alegre: Escola de Engenharia, 1995. 141p. Tese (doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica e dos Materiais, UFRGS

SCULTHORPE M. A. (1967). *The Biology of Aquatic Vascular Plants*. London: Arnold.

SILVA R.H.P. (1997), Geoquímica e impacto ambiental do arsênio no Vale do Ribeira (SP PR), 100p (Dissertação de Mestrado, Instituto de Geociências, Universidade Estadual de Campinas)

SIEGEL F.R.2002. *Environmental geochemistry of potentially toxic metals*. Springer – Verlag, Berlin, Germany. 218p

SILVA, C.J.; NOGUEIRA, F.; ESTEVES, F.A. Composição química das principais espécies de macrófitas aquáticas do lago Recreio, Pantanal matogrossense (MT) *Acta Limnol. Brasil.*; v.54 n. 4, p.617-622, 1993

SILVESTRE, M. E. D. Água doce no Brasil: razões de uma nova política / Maria Sioli, H. *Tropical Rivers: the amanzon*. In: Whitton, }B. A. (org) . *River ecology*. Univ of Cal. Press, Los Angeles, 1975, 725p.

SMEDLEY P.L & KINNINBURGH, D.G.2002. A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters. *Applied Geochemistry*, 17:517-568

SUTTON D. L.& ORNES W. H. (1975). Phosphorous removal from static sewage effluente using duckweed. *J. Environ. Qual.* 4:367-370.

T. HOFFMAN, C. KUTTERA AND J. M. Santamaría ; Capacity of *Salvinia minima* Baker
to

The family of Lemnaceae – A Monographic Study 2. Veröffentlichungen des
Geobotanischen Institutes 95.

THOMAS, S. M., ESTEVES, F.A. Estudo de algumas espécies de macrofitas aquáticas
tropicais quanto ao seu valor nutritivo. In: IV Seminário Regional de Ecologia, 1985, São
Carlos, Anais... São Carlos, P.439-467

TSENG, C.H. 2004. The potential biological mechanisms of arsenic-induced diabetes mellitus.
Toxicology Applied Pharmacology. 197:67-83.

TUNDISI, J. G. Produção primária, standing-stock, fracionamento do fitoplâncton e fatores
ecológicos em ecossistemas lacustre artificial (Represa do Broa-São Carlos) Dept. de Biologia
da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, USP, 1977, 410p. (Tese de
livre-docência)

WATSON, L. & DALLWITZ, M.J. (1992 ONWARDS). [The families of flowering plants:](#)
descriptions, illustrations, identification, information retrieval. Version: 27th April 2006

WALKER, I.; FERREIRA, M.J.N. On the population dynamics and ecology of the shrimp
species (Crustacea, Decapoda, Natantia) in the Central Amazonian river Tarumã-Mirim.
Oecologia, v.66, p. 264-270, 1985.

WEANER, J.E. & CLEMENTS, F.E. 1938. *Plant ecology*. New York, Mc.Graw Hill

Werneck, M.S., Pedralli, G., Koenig, R., Giseke, L.F. Florística e estrutura de trechos de uma
floresta semidecídua na Estação Ecológica do Tripuí, Ouro Preto, MG. *Revista Brasileira de
Botânica*, v.23, nº 1, p.97-106, 2000

WESTMAN E.W. (1985). *Ecology, Impact Assessment, and Environmental Planning*. A

WHO, WOLD HEALTH ORGANIZATION. 2001. Environmental Health Criteria 224: arsenic and arsenic compounds, <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc224.htm>. Acessado em 02/08/2007

WHO, WOLD HEALTH ORGANIZATION. 2001A. United Nations Systesis Report on arsenic e Drinking water.

ZAYED, A., GOWTHAMAN, S., E TERRY, N. 1998. Phytoaccumulation of trace elements by wetland plants: I. Duckweed. Journal of Environmental Quality 27:715-721.

ZHU, Y.-L., ZAYED, A., QIAN, J.-H., E TERRY, N. 1999. Phytoaccumulation of trace elements by wetland plants: II. Water hyacinth. Journal of Environmental Quality 28:339-344.

http://www.who.int/water_sanitation_health/Arsenic/ArsenicUNReptoc.htm acessado em 02/08/2007

http://www.who.int/water_sanitation_health/Arsenic/ArsenicUNReptoc.htm acessado em 02/08/2007

<http://www.who.int/inf-fs/es/fact210.html> World Health Organization. Acessado em 02/09/2007

<http://www.who.int/inf-fs/es/fact210.html> World Health Organization. Acessado em 10/08/2007

<http://www.manuelzao.ufmg.br/subprojetos/cartilha/cap3.htm> Acessado em 15/08/2008

www.agr.unicamp.br - Faculdade de Engenharia Agrícola. Acessado em 15/08/2008

CAPITULO 8

ANEXOS

ANEXO 1: MATERIAIS E METODOS

Materiais utilizados para adaptação das macrófitas em laboratório:

- Solução de hipoclorito de sódio 1% (v/v)
- Água deionizada
- Solução nutritiva de Hoagland com 1/5 da força iônica original, pH 7
- Recipientes de polietileno
- Estufa de crescimento com luz e temperatura controladas
- Aerador

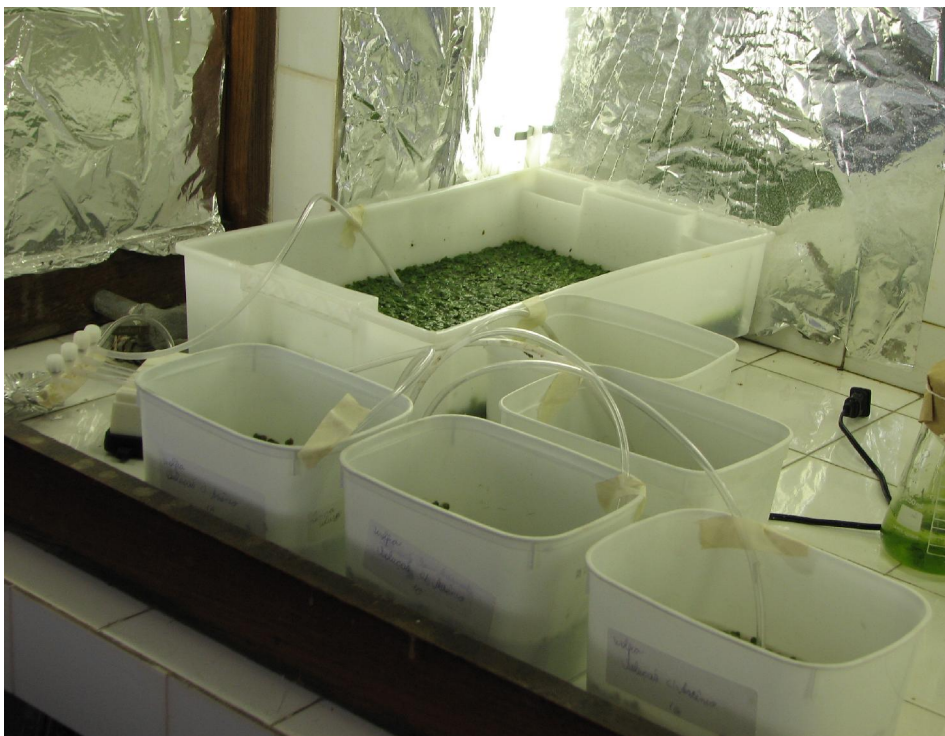


Figura 8.1: Estufa de crescimento e sistema de aeração das macrófitas

Materiais utilizados para testes de crescimento das macrófitas em estufa de crescimento:

- Solução nutritiva de Hoagland com 1/5 da força iônica original, pH 7
- 25 potes plásticos não transparentes
- Balança analítica
- Estufa de crescimento
- Estufa para secagem das plantas
- Aerador

Materiais utilizados para exposição das plantas ao arsênio.

- Solução nutritiva de Hoagland com 1/5 da força iônica original, pH 7 e pH 5,5
- Potes plásticos não transparentes
- Balança analítica
- 5000 . mg.L⁻¹ de Arseniato de Sódio (Na₂HAsO₄. 7H₂O).
- Ácido nítrico 1%,
- Estufa para secagem.
- Estufa de crescimento
- Aerador

Materiais utilizados para análise do teor de arsênio nas plantas

- Ácido clorídrico
- Tiosulfato de Sódio
- Cloreto de Cobre II

Materiais utilizados para digestão da macrófitas

- Ácido nítrico (67%) marca MERK PA ISSO
- Peróxido de hidrogênio (30%) p/p QM PA
- Microondas modelo MDS-2000-CEM Corp

Modo de preparo da Solução nutritiva de Hoagland com 1/5 da força iônica

Tabela 2: Preparo de solução nutritiva:

Reagente	Concentração dos elementos na solução nutritiva
N-NO ₃ ⁻	14 mM
N-NH ₄ ⁺	1 mM
P	1 mM
K	6 mM
Ca	4 mM
Mg	2 mM
S	2 mM
Mn	9,1 µM
Zn	0,8 µM
Cu	0,3 µM
B	46,3 µM
Mo	0,1 µM
Fe	32 µM

Tabela 3: Preparo da solução estoque (volume de 100 mL):

Reagentes	Massa Molar	Concentração
KH ₂ PO ₄	136,09	1 M
KNO ₃	101,10	1 M
MgSO ₄ . 7H ₂ O	346,47	1 M
Ca (NO ₃). 4H ₂ O	236,15	1 M

Tabela 4: Micronutrientes

Micronutrientes	
H ₃ BO ₃	2,86 g/L
MnCl ₂	1,81 g/L
ZnSO ₄	0,22 g/L
CuSO ₄	0,08 g/L
Na ₂ MoO ₄	0,02 g/L

Fe-EDTA **

0,045 mM

** Modo de preparo do Fe-EDTA

SOLUÇÃO A:

Adicione, em 500 mL de água morna (~ 30°C), 100 mL de NaOH 1 M e, em seguida, dissolva 33,50 g de Na₂EDTA. 2H₂O

SOLUÇÃO B:

Adicione a aproximadamente 300 mL de água quente (~70°C), 4 mL de H₂SO₄ 1 M e, em seguida, dissolva 25,2 g de Fe SO₄. 7H₂O

SOLUÇÃO FINAL:

Misture A e B e aere durante 12 h, no escuro. Ajuste o pH para 5,5 e complete o volume para 1 L, em balão volumétrico.

Preparo da solução nutritiva de Hoagland com 1/5 da força iônica:

Tabela 5: Volume retirado da solução estoque para o preparo de 1 L da solução nutritiva, com 1/5 da força iônica:

Reagentes	Volume da alíquota (mL)
KH ₂ PO ₄	0,2
KNO ₃	1,0
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,4
Ca (NO ₃). 4H ₂ O	1,0
Micronutrientes	0,2
Fe-EDTA	0,1

Tabela 7: Análise estatística da absorção de arsênio por *Lemna minuta* em pH 7,0.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	F	P maior
Tempo	17	3359029	197590	7,09	0,000
Erro	18	501523	27862		
Total	35	3860551			

S= 166,9 R-Sq = 87,01% R-Sq (adj) = 74,74%

Individual 95% CIs For Mean Based on Pooled StDev

Level	N	Mean	StDev	-----+-----+-----+-----+--
0 H	2	1374,9	78,2	(-----*-----)
4 H	2	1218,6	130,6	(-----*-----)
8 H	2	1384,7	118,5	(-----*-----)
12 H	2	1175,4	11,7	(-----*-----)
2 D	2	1175,9	25,0	(-----*-----)
3 D	2	1100,0	0,0	(-----*-----)
4 D	2	1074,5	20,5	(-----*-----)
5 D	2	1272,1	245,4	(-----*-----)
6 D	2	936,1	53,2	(-----*-----)
7 D	2	1041,6	66,4	(-----*-----)
8 D	2	1043,3	40,6	(-----*-----)
9 D	2	1370,5	101,6	(-----*-----)
10 D	2	1047,2	110,2	(-----*-----)
11 D	2	1307,5	195,4	(-----*-----)
12 D	2	852,1	478,4	(-----*-----)
13 D	2	350,6	69,4	(-----*-----)
14 D	2	417,7	79,7	(-----*-----)
15 D	2	558,6	305,6	(-----*-----)

-----+-----+-----+-----+--
 400 800 1200 1600

Tabela 8: Estatística da absorção de arsênio por *Spirodela intermedia* em pH 5,5

Fonte de variação	GL	SQ	QM	F	P maior
Tempo	12	1510574	125881	1,45	0,204
Erro	26	2249451	86517		
Total	38	3760025			

Individual 95% CIs For Mean Based on Pooled StDev

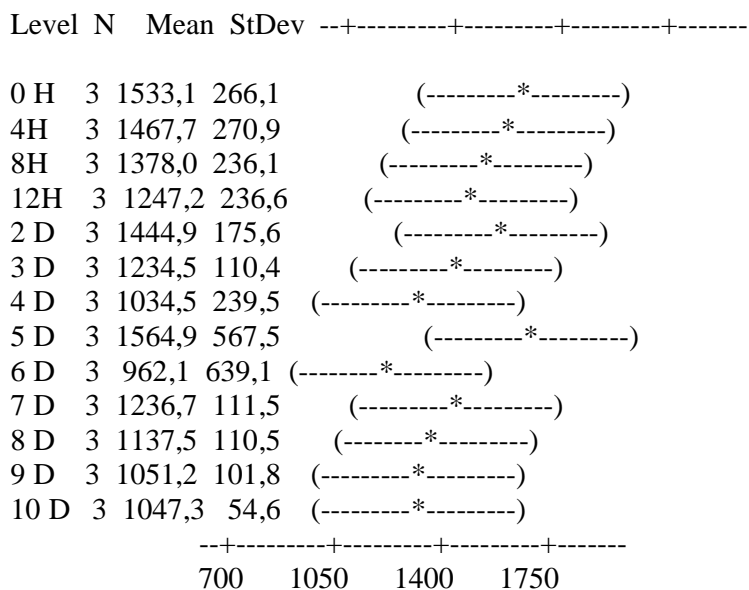


Tabela 9: Estatística da absorção de arsênio por *Lemma minuta* em pH 5,5

Fonte de variação	GL	SQ	QM	F	P maior
Tempo	15	7681637	512109	58,35	0,000
Erro	32	280834	8776		
Total	47	7962472			

Individual 95% CIs For Mean Based on Pooled StDev

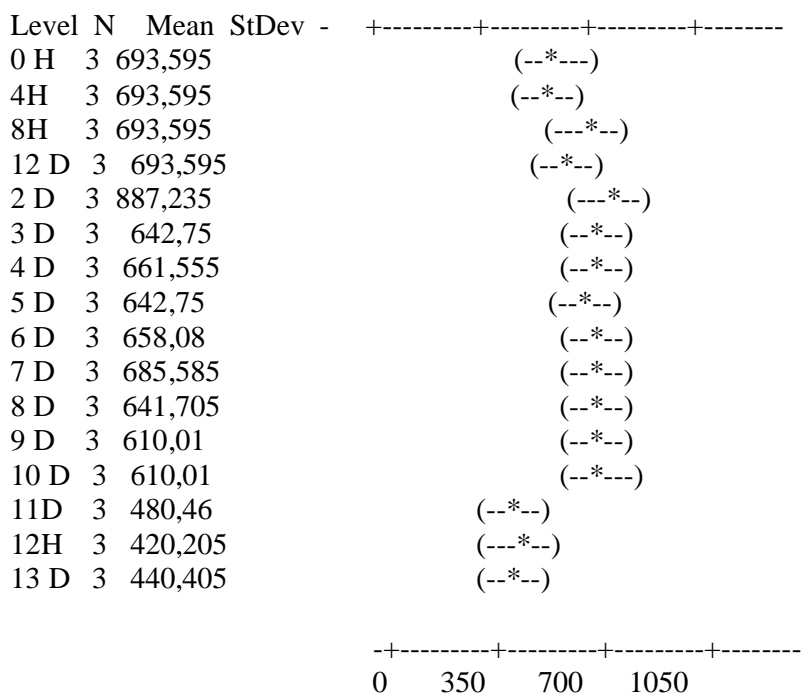


Tabela 10: Estatística da comparação da media da absorção da *Spirodela intermedia* em pH 5,5 e pH 7,0

Fonte de variação	GL	SQ	QM	F	P maior
Tempo	13	826896	63607	0,35	0,964
pH	1	1467	1467	0,01	0,929
Erro	13	2330487	179268		
Total	27	3158850			

Individual 95% CIs For Mean Based on Pooled StDev

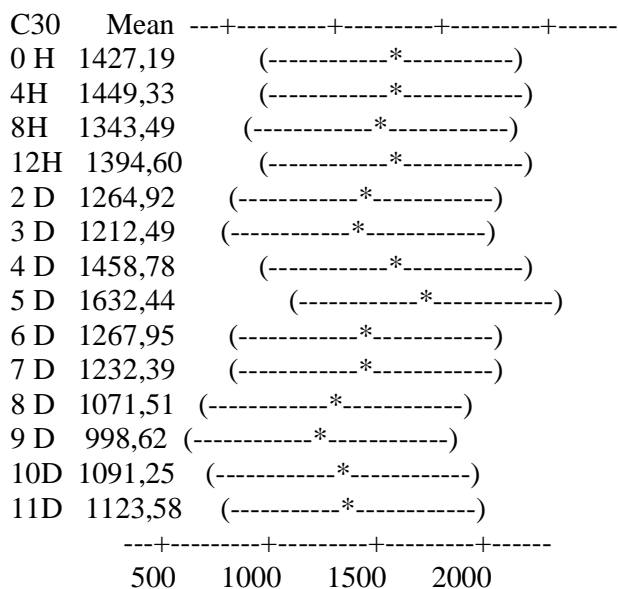


Tabela 11: Estatística da comparação da media da absorção da *Lemna minuta* em pH 5,5 e pH 7,0

Fonte de variação	GL	SQ	QM	F	P maior
Tempo	15	2701858	180124	1,82	0,128
pH	1	1467	1467	0,01	0,929
Erro	15	1481822	98788		
Total	31	8426112			

Individual 95% CIs For Mean Based on Pooled StDev

Level	N	Mean	StDev	-----+-----+-----+-----+-----	
5,5	16	413,0	454,9	(-----*-----)	
7,0	16			(-----*-----)	
				-----+-----+-----+-----+-----	
		300	600	900	1200