

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

O manguezal é um ecossistema costeiro, de transição entre os ecossistemas marinho e terrestre e sujeito ao regime de marés (YOKOYA, 1995). Esse ecossistema funciona como uma unidade integrada, sendo a vegetação a principal responsável pela dinâmica produtiva dos estuários tropicais e áreas adjacentes (KATHIRESAN & BINGHAM, 2001; VANNUCCI, 2001). Devido a sua distribuição costeira, o manguezal é considerado um ecossistema associado da Mata Atlântica. No Brasil, ocorre em quase todo o litoral e abrange aproximadamente 13.762 Km<sup>2</sup>. (KJERFVE e LACERDA, 1993).

Entre os recursos naturais do Estado do Espírito Santo, as áreas de manguezal representam um patrimônio importante, uma vez que constituem zonas de elevada produtividade biológica. Ocupam uma área aproximada de 70 km<sup>2</sup>, sendo os bosques mais extensos encontrados no entorno da Baía de Vitória e nos estuários dos rios Piraqueaçu e São Mateus (VALE e FERREIRA, 1998). A composição florística consiste basicamente em quatro espécies: *Avicennia schaueriana* Stapft & Leechm., *Avicennia germinans* (L.) Stearn, *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn. e *Rhizophora mangle* L. Na casca de *Rizophora mangle* contém o tanino usado para impermeabilizar e dar a cor característica a um dos principais símbolos da cultura popular do Espírito Santo - a panela de barro de Goiabeiras - cuja fabricação artesanal foi tombada pelo Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional como patrimônio imaterial do Espírito Santo (IPHAN, 2009).

A flora dos manguezais é formada por plantas halófitas bem adaptadas à flutuação de salinidade e a sedimentos inconsistentes, deficientes em oxigênio e ricos em matéria orgânica (FERNANDES e PERIA, 1995; VANUCCI, 1999). Entretanto, as condições climáticas e edáficas de cada manguezal, especialmente a radiação solar (Tüffers et al. 1999), a salinidade (CAMILLERI e RIBI, 1993; PARIDA et al., 2004; SOBRADO, 2004; 2005; 2007) e a disponibilidade de nutrientes (FELLER, 1996) podem acarretar respostas diferenciadas nas plantas a cada ambiente. Além disso, a poluição atua como tensora crônica, constituindo um fator adicional de resposta das plantas, o que, em última instância, pode provocar a morte do manguezal (VARJABEDIAN, 1995). No Espírito Santo, os manguezais estão sujeitos tanto à poluição das águas pelo lançamento de esgoto *in natura* e pelas atividades industriais, como também à poluição atmosférica, especialmente, por ferro particulado. A emissão de ferro particulado está associada à atividade de usinas de pelletização, que fazem do Espírito Santo o Estado detentor do maior complexo de produção e exportação de pelotas de ferro do mundo (IBEF, 2011).

Os estudos referentes à flora do manguezal no Estado do Espírito Santo são poucos e abordam, principalmente, aspectos fitossociológicos (CARMO et al., 1995; SILVA et al., 2005; PEREIRA et al., 2009; BERNINI e REZENDE, 2010) e nutricionais da vegetação

(CUZZUOL e CAMPOS, 2001; BERNINI et al., 2006). Dados referentes à fotossíntese e ao teor de pigmentos fotossintéticos de *Rhizophora mangle* e *Laguncularia racemosa* em uma área de manguezal da Baía de Vitória encontram-se no trabalho de Falqueto et al. (2008). Não foram encontradas publicações referentes à anatomia ecológica para plantas de manguezal do Espírito Santo. Além disso, informações sobre as respostas das plantas ao material particulado estão restritas às plantas de restinga (LOPES et al., 2000; OLIVA et al., 2005; SILVA et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2007; SILVA e AZEVEDO, 2007; KUKI et al., 2008), não sendo encontrados registros para plantas de manguezal nesse Estado.

Assim, a avaliação da plasticidade de caracteres morfo-anatômicos e fisiológicos de espécies vegetais de manguezal às diferentes condições ambientais a que estão submetidas irá complementar a escassez de dados existentes, sobretudo no Estado do Espírito Santo. Além disso, a caracterização foliar dessas espécies fornecerá um diagnóstico de cada área de manguezal avaliada, de maneira que trabalhos futuros poderão identificar possíveis mudanças ocorridas no ambiente a partir da observação de variações na estrutura foliar. Com relação aos poluentes, a avaliação de possíveis respostas exibidas pelas espécies a essa exposição poderá revelar seu uso potencial em programas de biomonitoramento.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 O ecossistema manguezal

O manguezal é um ecossistema costeiro, presente em regiões tropicais e ocasionalmente subtropicais (YOKOYA, 1995). Esse ecossistema possui uma importante função ecológica, pois oferece abrigo para muitas espécies de peixes e crustáceos e fornece alimentação e oportunidades para a nidificação da fauna aérea, além de muitas outras interações com outros sistemas. Além disso, a grande quantidade de serrapilheira produzida contribui para a produção de matéria orgânica, tanto no manguezal como em habitats adjacentes, contribuindo com as teias alimentares e transferência de energia (KATHIRESAN e BINGHAM, 2001; VANNUCCI, 2001).

Os sedimentos dos manguezais são tipicamente argilosos, mas a vegetação pode crescer em diversos tipos de solo, com texturas e composição química diferentes, tendo cada espécie suas preferências (VANNUCCI, 1999). De um modo geral, os solos são ricos em matéria orgânica, possuem baixa consistência, alto conteúdo de sal e apresentam coloração cinza-escuro, com exceção dos embasamentos de recifes de coral e locais dominados por areias (FERNANDES e PERIA, 1995). A matéria orgânica do solo é totalmente derivada de folhas de mangue (LACERDA et al., 1995). A maioria dos materiais depositados é compactada pelos movimentos das correntes de maré e, à medida que prossegue o processo de compactação, resta pouco espaço intersticial e os sedimentos se tornam gradualmente deficientes em oxigênio ou até mesmo anóxicos e o pH pode se tornar muito baixo. Essas condições favorecem a redução dos sulfetos ou  $\text{FeS}_2$  (pirita) a sulfatos, com a conseqüente formação de ácido sulfúrico (VANNUCCI, 1999).

O manguezal é um ecossistema considerado marginal no sentido de que as espécies de plantas e animais que nele habitam vivem muito perto dos limites de tolerância a condições ambientais extremas sendo, por isso, considerado um ambiente único. Pelo fato de poucas espécies serem capazes de tolerar extremos de salinidade, inundação, temperatura, ventos, entre outros fatores, a biodiversidade desse ecossistema é baixa (VANNUCCI, 2001).

A vegetação é constituída de espécies lenhosas típicas (angiospermas) além de macro e microalgas, adaptadas à flutuação de salinidade (SUGIYAMA, 1995). Em alguns manguezais, é possível observar um padrão de zonação, ou seja, a existência de zonas formadas pelas espécies arbóreas. Esse padrão pode ser determinado por diferentes fatores, como topografia, corrente de marés e composição do sedimento (Tomlinson, 1986). Além disso, a dinâmica de mudas de mangue é influenciada pela variação espacial e temporal dos níveis de sulfeto e do potencial redutor do solo, assim como estes fatores são

modificados pelo sistema radicular de árvores adultas, de modo que esses processos recíprocos podem desempenhar um papel importante na organização espacial do manguezal (McKee, 1993).

Segundo Tomlinson (1986) os mangues podem ser divididos em três grupos: elementos principais de manguezal ou mangues verdadeiros, elementos secundários de manguezal e associados de mangue. Os primeiros são caracterizados por ocorrer exclusivamente no manguezal; desempenhar um papel importante na comunidade e possuir a capacidade de formar estandes puros; apresentar especializações morfológicas de adaptação ao ambiente, como raízes aéreas e reprodução por viviparidade e algum mecanismo fisiológico para exclusão de sal; e possuir isolamento taxonômico de parentes terrestres ao nível de família ou subfamília. Os elementos secundários de manguezal não possuem a habilidade de formar elementos conspícuos da vegetação, enquanto os associados de mangue nunca habitam comunidades de mangues verdadeiros, ocorrendo somente na vegetação transicional com outros ecossistemas.

Considerando esta classificação, os mangues verdadeiros brasileiros possuem como representantes da flora arbórea típica três gêneros (*Avicennia* L., *Laguncularia* Gaertn. e *Rhizophora* L.) e seis espécies (*Rhizophora mangle*, *Rhizophora racemosa*, *Rhizophora harrisonii*, *Avicennia germinans*, *Avicennia schaueriana*, *Laguncularia racemosa*) (KJERFVE e LACERDA, 1993). Destas, quatro espécies são encontradas no Espírito Santo: *Avicennia schaueriana* Stapft & Leechm (mangue preto ou siriúba), *Avicennia germinans* (L.) Stearn (mangue preto), *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn (mangue branco) e *Rhizophora mangle* L. (mangue vermelho).

### **2.1.1 Flutuações de salinidade e adaptações da flora do manguezal**

As espécies de mangue são plantas halófitas ou pelo menos tolerantes à salinidade (VANNUCCI, 1999). A maioria das espécies também cresce em água doce, mas o crescimento é estimulado por condições salinas (BALL, 1988), apresentando crescimento máximo em baixas concentrações de sal (BALL, 1998). Além disso, nessas condições elas dominam por exclusão competitiva de outras espécies que não toleram tais condições (VANNUCCI, 2001).

Para viver em ambientes salinos ou fisiologicamente secos, os mangues possuem adaptações xerófitas, incluindo a presença de tecidos de armazenamento de água, estômatos em depressão e aerênquima (THONLINSON, 1986). Algumas espécies possuem glândulas secretoras de sal, que conferem uma maior tolerância e flexibilidade em lidar com as flutuações no fluxo de sal para a parte aérea (YE et al., 2005). Sobrado (2004) verificou que as taxas de secreção de sal em *L. racemosa* aumentaram com o incremento da

salinidade em ambos os experimentos de campo e estufa. Outra característica comum às espécies de mangue é a alocação de sal nas folhas (CRAM et al., 2002), o que resulta em um aumento na suculência foliar (SUÁREZ e SOBRADO, 2000), devido ao desenvolvimento do tecido hipodérmico (TOMLINSON, 1986). Um mecanismo de ultrafiltração de sais nas raízes também está presente em várias espécies (SCHOLANDER et al., 1962).

De acordo com as estratégias de tolerâncias ao sal, as espécies podem ser classificadas em sal-secretoras, quando secretam o sal por meio de glândulas de sal, sal-acumuladoras, quando acumulam sal nas células, sobretudo nos vacúolos, e/ou sal-excludentes, quando eliminam parte do sal a partir da ultrafiltração nas células das raízes. Neste contexto, a revisão feita por Parida e Jha (2010) mostra que *Rhizophora* é um gênero sal-excludente e sal-acumulador, *Laguncularia* é um gênero secretor e *Avicennia* é um gênero sal-excludente, sal-secretor e sal-acumulador.

Quanto à tolerância ao sal pelas plantas, Fernandes e Peria (1995) verificaram que o gênero *Rhizophora*, é menos tolerante (desenvolvendo-se melhor em locais onde há 50 partes de sal por 1.000 partes de água), sendo *Avicennia* mais tolerante (conseguindo sobreviver em locais onde as águas intersticiais chegam a conter 65 a 90 partes de sal por 1.000 partes de água) e *Laguncularia* com tolerância intermediária.

### **2.1.2 Impactos antrópicos sobre o manguezal**

Segundo a Unesco (1980) e Citron e Schaeffer-Novelli (1983), citado por Vanrjabedian (1995), os impactos ambientais registrados em áreas de manguezal incluem, entre outros, desmatamento, aterro e descarga de materiais tóxicos. A poluição, seja de origem industrial, portuária, hospitalar ou doméstica, atua como tensora crônica e seus impactos podem, a longo prazo, provocar a morte do manguezal, pois criam condições quase sempre impróprias ao seu desenvolvimento (VANRJABEDIAN, 1995).

No Estado do Espírito Santo, os manguezais estão sujeitos não só à poluição proveniente das águas, mas também ao material particulado, principalmente ferro particulado, proveniente de usinas de mineração.

Há poucos estudos sobre o efeito do material particulado sedimentado na superfície foliar em espécies de manguezal. Paling et al. (2001) concluíram que o pó de minério de ferro não causa dano celular ou redução da transpiração por meio da oclusão dos estômatos em *Avicennia marina* (Forfk). Vierh. Naidoo e Chirkoot (2004) avaliando o efeito do pó de carvão, também nessa espécie, mostraram que há uma redução significativa na troca de dióxido de carbono e na fotossíntese, exibindo menor rendimento quântico do fotossistema II, menor taxa de transporte de elétrons (ETR), e eficiência quântica do PSII reduzida. Naidoo e Naidoo (2005) estudando o efeito da poeira nos mangues *Avicennia marina*,

*Bruguiera gymnorrhiza* e *Rhizophora mucronata* e no mangue associado *Hibiscus tiliaceus* observaram que a poeira reduziu significativamente a fotossíntese nas espécies *H. tiliaceus* e *A. marina*, que possuem folhas pilosas e, portanto, retêm mais pó na superfície foliar.

Estudos relacionados a metais pesados no sedimento têm documentado que os manguezais são barreiras biogeoquímicas eficazes para o transporte de metais contaminantes em áreas costeiras tropicais (SILVA et al., 1998; ZHOU et al., 2010) e que as plantas possuem a capacidade de manter a carga de metal a um baixo potencial de remobilização e captação biótica (MACHADO et al., 2002). A baixa carga de metais pesados nas plantas tem sido justificada, por exemplo, pela presença de barreiras na epiderme e endoderme da raiz (MACFARLANE e BURCHETT, 2000), oxidação do sedimento pelas raízes de mangue (LIU et al., 2009) e formação de placas de ferro na superfície radicular (MACHADO et al., 2005). Uma das respostas dos mangues a esses poluentes se dá pela acumulação de metais nos tecidos vegetais, como Zn, Cu, Pb, Cd, Mn e Fe (TAM e WONG, 1997; MACFARLANE e BURCHETT, 2000; SARANGI et al., 2002; MACFARLANE et al., 2003). Macfarlane e Burchett (2002) mostraram em condições controladas que o aumento das concentrações de Cu e Zn no sedimento acarretam em reduções significativas na altura das mudas, na área foliar, na biomassa total e na inibição do crescimento da raiz de *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh e que o Pb, devido ao seu transporte limitado na epiderme da raiz, exerce pouco efeito negativo no crescimento dessa espécie. Rocha et al. (2009) estudaram o efeito do cromo no crescimento e metabolismo de *L. racemosa* e concluíram que essa espécie possui tolerância a esse metal, pois o crescimento, o teor de pigmentos e as trocas gasosas não foram alteradas pelas doses de cromo.

### **2.1.2.1 Poluição do ar e material particulado**

Segundo a Resolução Conama n° 3, de 28/06/1990, poluente atmosférico é “qualquer forma de matéria ou energia com intensidade e em quantidade, concentração, tempo ou características em desacordo com os níveis estabelecidos e que tornem ou possam tornar o ar impróprio, nocivo ou ofensivo à saúde, inconveniente ao bem-estar público, danoso aos materiais, à fauna e à flora ou prejudicial à segurança, ao uso e gozo da propriedade e às atividades normais da comunidade”.

De acordo com o IEMA (2007), com exceção da poluição gerada pela decomposição biológica, todas as demais fontes de poluição liberam material particulado (Tabela 1).

Tabela 1. Tipos de Fonte de Poluição e os seus principais Poluentes.

Modalidade das Fontes	Tipos de Fontes		Poluentes*	
Antropogénicos	Fixas	Processos Industriais	MP, SO <sub>x</sub> , NO <sub>x</sub> , CO, HC	
		Caldeiras, Fornos e Aquecedores	MP, SO <sub>x</sub> , NO <sub>x</sub> , CO, HC	
		Construção Civil	MP	
		Queima ao Ar Livre e Queimadas	MP, Fumaça, SO <sub>x</sub> , NO <sub>x</sub> , CO, HC	
		Exploração, Beneficiamento, Movimentação e Estocagem de Materiais Fragmentados	MP	
	Móveis	Tipo de Fonte	Tipo de Combustível	Poluentes
		Aviões	Querosene	MP, HC, NO <sub>x</sub>
		Navios e Barcos	Diesel/óleo combustível	MP, HC, NO <sub>x</sub> , SO <sub>x</sub> , CO
		Caminhão e Ônibus	Diesel	MP, HC, NO <sub>x</sub> , SO <sub>x</sub> , CO
		Automóveis e Motos	Gasolina/álcool/Gás	MP, HC, NO <sub>x</sub> , CO, Aldeídos
Naturais	Tipos de Poluentes		Poluentes	
	Oceanos		MP	
	Decomposição Biológica		SO <sub>2</sub> , NO <sub>3</sub> , HC	
	Praias, Dunas		MP	
	Queimadas		MP, CO, NO <sub>x</sub> , Fumaça	
Superfícies sem coberturas vegetais		MP		

\*MP (Material Particulado), SO<sub>x</sub> (Óxido de Enxofre), SO<sub>2</sub> (Dióxido de Enxofre), NO<sub>x</sub> (Óxidos de Nitrogênio), HC (Hidrocarbonetos), CO (Monóxido de Carbono).

Fonte: IEMA, 2006.

A poluição particulada do ar corresponde a uma mistura de partículas sólidas e/ou líquidas, que variam em tamanho, forma, composição e origem (SALGADO, 2003).

Com relação à origem, o material particulado presente na atmosfera pode resultar de processos naturais, a partir, por exemplo, da ressuspensão de poeira do solo, de atividades vulcânicas, incêndios naturais e aerossóis marinhos, ou podem ter origem antropogénica, sendo gerados, por exemplo, da queima de combustível para o transporte e de queimadas na agricultura (SALGADO, 2003).

De acordo com a sua formação, o material particulado pode ser classificado como poeiras, fumos, fumaça ou névoas. As poeiras são partículas sólidas, formadas geralmente

por desintegração mecânica, como moagem e britagem. Os fumos são partículas sólidas formadas por condensação ou sublimação de substâncias gasosas originadas da vaporização/sublimação de sólidos, geralmente acompanhada de reações químicas. A fumaça corresponde a partículas principalmente sólidas, usualmente vindas da combustão de combustíveis fósseis, materiais asfálticos ou madeiras, as quais contêm fuligem, partículas líquidas e, no caso da madeira e carvão, uma fração mineral (cinzas). Finalmente, as névoas são partículas líquidas produzidas por condensação ou por dispersão de um líquido (CETESB, 2010).

As partículas também podem ser classificadas com relação ao seu diâmetro. Partículas com diâmetro de até 10  $\mu\text{m}$  (chamadas PM<sub>10</sub>) apresentam uma fração fina (partículas com diâmetro 2,5  $\mu\text{m}$  ou menos) e uma fração grosseira (partículas com diâmetro entre 2,5 e 10  $\mu\text{m}$ ). As que apresentam diâmetro inferior a 2,5  $\mu\text{m}$  (PM<sub>2,5</sub>) têm a capacidade de penetrar em regiões mais profundas do trato respiratório e, por apresentarem mais riscos à saúde humana, são mais estudadas. As partículas com diâmetro maior que 100  $\mu\text{m}$  tendem a se sedimentar, sendo chamadas de partículas sedimentáveis (SALGADO, 2003).

A fim de estabelecer limites para a concentração de poluentes atmosféricos, os padrões nacionais de qualidade do ar, fixados na Resolução CONAMA n.º 03 de 28/06/90 estabeleceu padrões primários e secundários para: partículas totais em suspensão (PTS), fumaça partículas inaláveis (PM<sub>10</sub>), monóxido de carbono (CO), ozônio (O<sub>3</sub>), dióxido de enxofre (SO<sub>2</sub>) e dióxido de nitrogênio (NO<sub>2</sub>) (Tabela 2). Os padrões primários se referem às concentrações de poluentes presentes no ar que se ultrapassados, poderão afetar a saúde. Nesses, inclui-se, uma margem de segurança para proteger a população mais sensível como crianças, idosos e pessoas com problemas respiratórios. Os padrões secundários se referem às concentrações de poluentes abaixo das quais se prevê o mínimo efeito adverso sobre o bem estar da população, assim como o mínimo dano à fauna, à flora, aos materiais e ao meio ambiente em geral, sendo entendidos como níveis desejados de concentração de poluentes.

Tabela 2. Limite para a concentração de poluentes atmosféricos (CONAMA n.º 03/90)

<b>Poluentes</b>	<b>Tempo de amostragem</b>	<b>Padrão Primário</b>	<b>Padrão Secundário</b>	<b>Método de Amostragem</b>
PTS	24 horas <sup>1</sup>	240 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	150 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	Separação
	MGA <sup>2</sup>	80 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	60 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	inercial/Filtração
PM <sub>10</sub>	24 horas <sup>1</sup>	150 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	150 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	Separação
	MAA <sup>3</sup>	50 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	50 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	inercial/Filtração
CO	1 hora <sup>1</sup>	40.000 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	40.000 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	Infravermelho não



		35,0 ppm	35,0 ppm	dispersivo
	8 horas <sup>1</sup>	10.000 µg/m <sup>3</sup>	10.000 µg/m <sup>3</sup>	
		9,0 ppm	9,0 ppm	
O <sub>3</sub>	1 hora <sup>1</sup>	160 µg/m <sup>3</sup>	160 µg/m <sup>3</sup>	Quimiluminescência
SO <sub>2</sub>	24 horas <sup>1</sup>	365 µg/m <sup>3</sup>	100 µg/m <sup>3</sup>	Pararosanilina
	MAA <sup>3</sup>	80 µg/m <sup>3</sup>	40 µg/m <sup>3</sup>	
NO <sub>2</sub>	1 hora <sup>1</sup>	320 µg/m <sup>3</sup>	190 µg/m <sup>3</sup>	Quimiluminescência
	MAA <sup>3</sup>	100 µg/m <sup>3</sup>	100 µg/m <sup>3</sup>	

<sup>1</sup>Não deve ser excedido mais que uma vez ao ano; <sup>2</sup>Média Geométrica Anual; <sup>3</sup>Média Aritmética Anual.

O Governo do Estado do Espírito Santo, através do Instituto Estadual de Meio Ambiente e Recursos Hídricos – IEMA realiza o monitoramento da Qualidade do Ar por meio da Rede Automática de Monitoramento da Qualidade do Ar da Grande Vitória (RAMQAR), a qual é composta por 08 estações, sendo estas: Estação Laranjeiras, Carapina, Jardim Camburi, Enseada do Suá, Vitória – Centro, Vila Velha – Ibes, Vila Velha – Centro e Cariacica. Nessas estações são coletados dados de Partículas Totais em Suspensão (PTS); Partículas Inaláveis (PM<sub>10</sub>); Ozônio (O<sub>3</sub>); Óxidos de Nitrogênio (NO<sub>x</sub>); Monóxido de Carbono (CO) e Hidrocarbonetos (HC). Para viabilizar a análise da qualidade do ar, realiza-se ainda, o monitoramento dos seguintes parâmetros meteorológicos: Direção e Velocidade dos Ventos; Precipitação Pluviométrica; Umidade Relativa do Ar; Temperatura; Pressão Atmosférica e Radiação Solar (IEMA, 2007).

Estudos realizados entre os anos de 1995 e 1998 mostraram que as fontes de contribuição de material particulado na região da Grande Vitória são indústrias (34,6%), os solos (15,2%), pedreiras (12,7%), construções civis (12,5%), aerossóis (10,8%), queimadas (7,9%) e veículos (6,3%) (IEMA, 2006).

Para o Estado do Espírito Santo, informações sobre as respostas das plantas ao material particulado estão restritas às plantas de restinga (LOPES, 2000; OLIVA et al., 2005; SILVA et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2007; SILVA e AZEVEDO, 2007; KUKI et al., 2008), não sendo encontrados registros para plantas de manguezal. Kuki et al (2008) avaliando *Ipomoea pes caprae* L., *Canavalia rosea* DC, *Schinus terebinthifolius* Rardii e *Sophora tomentosa* L., mostrou que nas plantas próximas às fontes de emissão de ferro particulado houve um maior acúmulo no tecido foliar de ferro, todas as fenofases foram afetadas e, nas três primeiras espécies, um maior teor de clorofila total foi encontrado. Oliveira et al. (2007) ao comparar *Schinus terebinthifolius* Raddi em áreas afetadas e não afetadas por ferro particulado, mostraram que a espécie apresenta tolerância ao poluente, não diferindo significativamente o teor de pigmentos entre as áreas amostradas e apresentando aspecto

clorótico pouco acentuado e raras necroses pontuais. Silva et al. (2006) compararam as respostas de *Byrsonima sericea* DC., *Cordia verbenacea* DC. e *Psidium guineense* SW. expostas às emissões de ferro de uma fábrica de pelotização e uma área de referência e mostraram que *C. verbenacea* foi mais afetada pela poluição apresentando menor número de folhas, frutos e inflorescências e maior temperatura foliar nas plantas localizadas na área de mineração. Essa espécie também apresentou reação positiva ao teste histoquímico para detecção de ferro nos tricomas, células epidérmicas, colênquima, algumas células do xilema, endoderme da nervura central e tecidos do mesófilo, a qual atribuiu à absorção foliar de ferro.

## 2.2 Espécies bioindicadoras e biomonitoramento

Bioindicadores são organismos ou comunidades sensíveis às mudanças ambientais, que reagem a estímulos específicos, indicando as condições do meio em que vivem, dando informações sobre as mudanças ocorridas e, ocasionalmente, o nível de intensidade da mudança ambiental (MARTÍ e ANDRÉS, 2007). O efeito causado pelos poluentes nos organismos encontra-se no final de um processo que se inicia com a *emissão* do poluente, prossegue com a sua *dispersão* no meio ambiente, influenciada por fatores climáticos que determinam seus *fatores de concentração* e finalmente termina com os seus efeitos nos seres vivos (KLUMPP, 2001).

Segundo Arndt & Schweizer (1991) organismos monitores incluem todos os organismos utilizados para o monitoramento qualitativo e quantitativo dos níveis de poluentes no meio ambiente. O biomonitoramento, portanto, consiste no uso das respostas de plantas individuais ou associações de plantas, para detectar ou prever mudanças no ambiente, geralmente causadas por ações antropogênicas, e acompanhar sua evolução em função do tempo. (DE TEMMERMAN, 2004).

O biomonitoramento pode ser passivo quando se faz uso de plantas de áreas naturais "in situ", seja a vegetação natural ou culturas, nos quais as plantas estão crescendo em seu ecossistema natural ou agro-ecossistema e são influenciadas pela poluição do ar, direta ou indiretamente (através da absorção do solo) durante períodos relativamente longos. Por outro lado, no biomonitoramento ativo, espécies de plantas e cultivares específicas (para as culturas) são utilizadas com métodos totalmente normalizados que vão desde a semeadura até a colheita e procedimentos químicos analíticos (DE TEMMERMAN, 2004). O principal objetivo prosseguido pela utilização em larga escala de bioindicadores é obter informações sobre o estado dos ecossistemas e concentrar-se na vigilância passiva (ARNDT e SCHWEIZER, 1991).

De acordo com Arndt & Schweizer (1991), dois tipos básicos de indicadores biológicos existem: indicadores de resposta (ou de reação) e indicadores acumulativos. Em ambos os casos, as lesões observadas e/ou de análises químicas realizadas permitem conclusões mais ou menos precisas para serem elaboradas sobre os níveis quantitativos de poluentes específicos, uma vez que valores de referência adequados foram estabelecidos.

Um dos critérios para um organismo ser bioindicador é a sua importância. Esta deve ser considerada grande, se o organismo desempenha um papel essencial para os seres humanos ou para um ecossistema, ou se o organismo indicador possui um alto grau de representação (ARNDT e SCHWEIZER, 1991).

Segundo Klumpp (2001), somente com o uso de bioindicadores é possível a verificação do impacto da poluição nos seres vivos; a integração de todos os fatores endógenos da planta que podem influenciar na resposta à poluição como, por exemplo, o estágio de desenvolvimento e a idade da planta, resistência de espécies e variedades, delimitando dessa maneira populações de risco; a integração de todos os fatores externos, como condições climáticas e edáficas, ocorrência de outros poluentes ao mesmo tempo ou concorrência entre espécies, características que viabilizam a avaliação de efeitos sinérgicos e aditivos; e a detecção de estresse crônico causado por níveis baixos de poluição atuando por períodos prolongados. De Temmerman (2004) ainda atribui como uma vantagem ao uso de bioindicadores a habilidade de algumas plantas acumularem os poluentes do ar mesmo quando estes estão em baixas concentrações no ambiente, tornando mais fácil a análise do poluente nas plantas do que seria no meio ambiente, a partir de métodos físico-químicos.

Dessa forma, com o uso de bioindicadores é possível provar o impacto da poluição sobre um ecossistema; fornecer informações sobre as causas de efeitos observados no ecossistema; demonstrar a distribuição espacial e temporal do impacto; e fornecer dados sobre um potencial risco para a flora, a fauna e a população humana. Entretanto, o uso de bioindicadores é um método complementar, e não substitutivo dos demais, visto que estimativas como a taxa de emissão ou medidas de concentrações ambientais do poluente não são possíveis de serem alcançadas (KLUMPP, 2001).

Macfarlane et al (2003), estudando o potencial de *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. como bioindicadora de metais pesados em sedimento de manguezal, mostrou que as raízes dessa espécie podem ser empregadas como um indicador biológico de Zn, Cu e Pb e suas folhas podem ser empregadas como bioindicadoras de Zn, pois houveram relações lineares com o conteúdos dos metais nesses tecidos e no sedimento.

Ramos e Geraldo (2007) avaliaram a bioacumulação de Cd, Cr, Cu, Pb e Zn em folhas de *Avicennia schaueriana*, *Laguncularia racemosa* e *Rhizophora mangle* e concluíram que *A. schaueriana* seria a espécie mais recomendada ao biomonitoramento desses metais

no sedimento da bacia do Rio Cubatão, pois há uma tendência de bioacumulação nesta espécie.

### 2.3 Descrição das espécies em estudo

#### ***Avicennia schaueriana* Stapft & Leechm (Acanthaceae)**

*Avicennia schaueriana* Stapft & Leechm, conhecida popularmente como mangue preto ou siriúba, pertence à família Acanthaceae, a qual possui distribuição predominantemente pantropical e inclui cerca de 200 gêneros e 3000 espécies. No Brasil ocorrem 44 gêneros e cerca de 500 espécies (SOUZA e LORENZI, 2008).

Descrição da espécie: Raízes subterrâneas extensas, suportando pneumatóforos e raízes de absorção. Casca variavelmente áspera, escura, rígida e fissurada. Lâmina foliar inteira, coriácea ou um pouco carnosa com nervuras inconspícuas e nervura central proeminente abaixo. Lâminas foliares variando de ovadas, elípticas a estreitamente lanceoladas; ápice arredondado, ligeiramente emarginado; base aguda. Presença de glândulas de sal em ambas as faces da lâmina foliar. Flores protândricas, perfeitas, tetrâmeras a pentâmeras modificadas, com 5 sépalas livres. As flores são maiores que as de *A. bicolor*, e diferente de *A. germinans*, a face interna da corola é glabra ou muito ligeiramente pilosa. O ovário é uniformemente piloso (TOMLINSON, 1986).

#### ***Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn (Combretaceae)**

*Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn, conhecida popularmente como mangue branco, pertence à família Combretaceae, a qual possui distribuição predominantemente pantropical e inclui cerca de 20 gêneros e entre 400 e 500 espécies. No Brasil ocorrem 6 gêneros e aproximadamente 60 espécies (SOUZA e LORENZI, 2008). A família é caracterizada por flores com ovário inferior unilocular com 2 óvulos pedunculares usualmente, um disco floral bem desenvolvido e pseudocarpo sem endosperma. *Laguncularia* é um gênero monotípico de mangue com distribuição restrita na América e Oeste da África (TOMLINSON, 1986).

Descrição da espécie: Raízes subterrâneas extensas, como cabo, suportando pneumatóforos e raízes de absorção. Casca áspera, fissurada, cinza. Ramos com numerosas lenticelas proeminentes ligeiramente. Lâmina foliar um pouco carnosa, elíptica a oblonga, margem inteira, arredondada a ligeiramente emarginada apicalmente. Base truncada e glabra. Folhas com pecíolo curto, apoiando duas glândulas circulares na superfície adaxial da lâmina. Árvores dióicas ou hermafroditas. Cada flor com 5 pétalas arredondadas e pilosas e 10 estames em duas séries de 5, inseridas em níveis diferentes. Flores masculinas com estames funcionais e ovário ausente. Flores femininas com estames não-funcionais e ovários bem desenvolvidos com 2 óvulos funcionais. Flores perfeitas, com

dimensões de flores femininas e estames e óvulos funcionais (TOMLINSON, 1986). Francisco et al. (2009) reconheceram 5 tipos de estruturas glandulares: um par de nectários extraflorais na porção adaxial do pecíolo; glândulas “tipo vulcão”, secretoras de sal, distribuídas por toda a superfície da lâmina foliar abaxial e adaxial; micro-pêlos na face abaxial, distribuídos desde a metade distal até o ápice da lâmina foliar, e sobre a nervura mediana; hidatódios na periferia da folha e sobre as nervuras secundárias no lado abaxial da lâmina foliar; e glândulas do bordo, imbricadas ao redor de toda a margem foliar.

### ***Rhizophora mangle* L. (Rhizophoraceae)**

*Rhizophora mangle* L., conhecida popularmente como mangue vermelho, pertence à família Rhizophoraceae, a qual possui distribuição pantropical e inclui 16 gêneros e cerca de 150 espécies. No Brasil ocorrem 4 gêneros e cerca de 15 espécies (SOUZA e LORENZI, 2008). A tribo Rhizophoreae inclui 4 gêneros exclusivos de mangue, *Bruguiera*, *Ceriops*, *Kandelia* e *Rhizophora*, nos quais a condição vivípara é uma particularidade (TOMLINSON, 1986).

Descrição da espécie: Presença de rizóforos com geotropismo negativo, responsável por fornecer estabilidade no sedimento inconsistente, os quais, quando em contato com o solo, formam as raízes (MENEZES, 2006). Folhas simples, inteiras, elípticas, com margens um pouco recurvadas. Textura foliar coriácea, glabra, mas com numerosos pontos suberizados na superfície abaxial, visíveis em folhas mais velhas como pontos escuros. Nervuras evidentes, mas não proeminentes. Pecíolo curto e cilíndrico. Flores tetrâmeras; ovário bilocular com 2 óvulos anátropos. Sementes vivíparas, germinadas pela extensão do hipocótilo; propágulos com 15- 20 cm, sem lenticelas conspícuas. *R. mangle* se distingue das demais espécies do gênero por usualmente ter folhas bastante menores (TOMLINSON, 1986).

### **3. HIPÓTESE**

Indivíduos de *Rhizophora mangle* L., *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn. e *Avicennia schaueriana* Stapft & Leechm mostram diferenças morfológicas e anatômicas em virtude das diferentes condições ambientais de cada área de manguezal estudada.

## 4. OBJETIVOS

### 4.1 OBJETIVO GERAL

Estudar a morfoanatomia foliar e aspectos fisiológicos de *Rhizophora mangle* L., *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn. e *Avicennia schaueriana* Stapft & Leechm em cinco áreas de manguezal do Estado do Espírito Santo visando avaliar a plasticidade dos indivíduos aos fatores edáficos, climáticos e/ou antropogênicos, sobretudo à exposição de ferro particulado.

### 4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Mensurar a área e a massa seca foliar das espécies para cada área de estudo;
- Analisar qualitativamente e quantitativamente a anatomia foliar de *A. schaueriana*, *L. racemosa* e *R. mangle* ocorrentes em diferentes áreas de manguezal;
- Detectar o acúmulo de ferro nos tecidos foliares por meio de teste histoquímico específico;
- Quantificar o teor de ferro nas folhas das espécies estudadas por meio de análise química;
- Verificar se há eliminação de ferro por meio das glândulas de sal presentes em folhas de *A. schaueriana* e *L. racemosa*;
- Caracterizar quimicamente o material particulado sedimentado na superfície foliar, por meio de espectrometria de energia dispersiva de raio-x (EDS) em Microscópio Eletrônico de Varredura;
- Avaliar o efeito do ferro particulado na morfoanatomia foliar de *A. schaueriana*, *L. racemosa* e *R. mangle*;
- Determinar a composição físico-química do sedimento das áreas em estudo;
- Identificar entre as espécies estudadas, as mais sensíveis e tolerantes à poluição por ferro particulado.

## 5. MATERIAIS E MÉTODOS

### 5.1 Área de estudo

Para o presente estudo foram selecionadas cinco áreas de manguezal localizadas em quatro municípios do Estado do Espírito Santo: Vitória, Cariacica, Aracruz e Conceição da Barra. Para o município de Vitória foram escolhidos dois pontos de amostragem, sendo um no Canal da Passagem e outro na Ilha do Lameirão. O Porto de Tubarão ( $20^{\circ}17'03.8''\text{S}$  e  $40^{\circ}14'24.9''\text{W}$ ), localizado em Vitória, é o principal exportador de minério de ferro do mundo (IBEF, 2011) e foi considerado neste estudo, como sendo a principal fonte emissora de ferro particulado no Estado (Fig. 1).

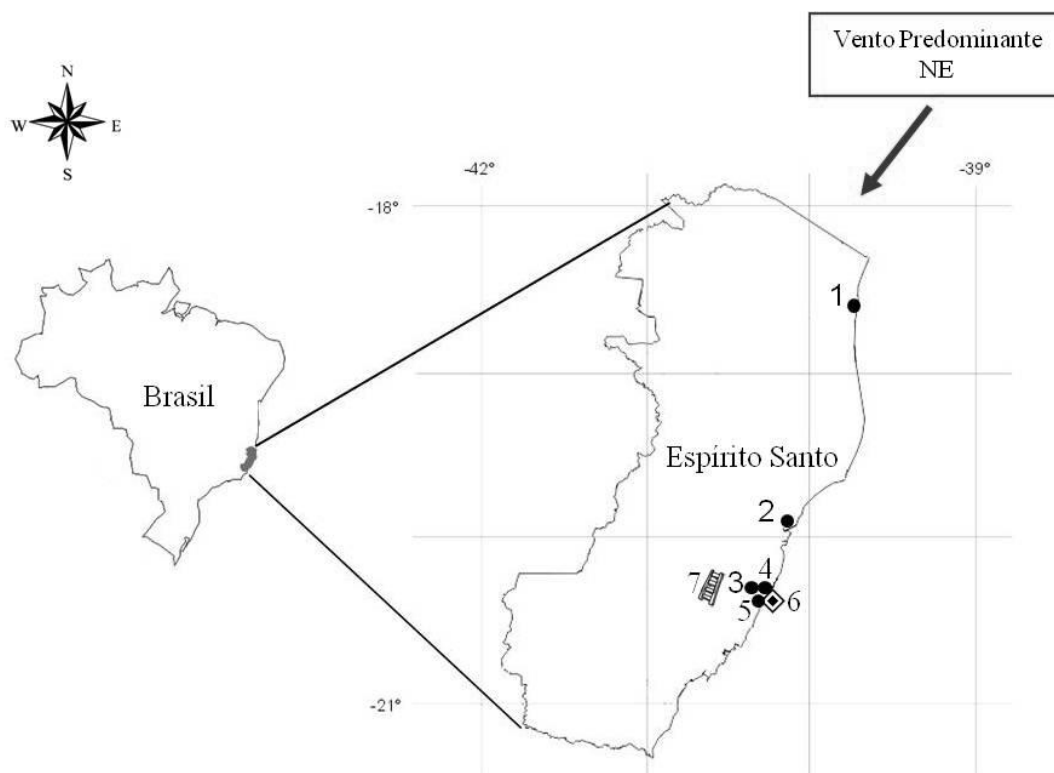


Figura 1. Mapa do Brasil e do Espírito Santo com a localização das áreas de amostragem deste estudo (1 = Conceição da Barra; 2 = Aracruz; 3 = Cariacica; 4 = Ilha do Lameirão; 5 = Canal da Passagem; 6 = Porto de Tubarão; 7 = Ferrovia de transporte de minério de ferro).

Os pontos escolhidos no Canal da Passagem ( $20^{\circ}18'95.7''\text{S}$  e  $40^{\circ}22'12.8''\text{W}$ ) e na Ilha do Lameirão ( $20^{\circ}14'60.6''\text{S}$  e  $40^{\circ}18'68.6''\text{W}$ ) estão localizados a 7,2 Km e 8,0 Km do Porto de Tubarão, respectivamente, e sofrem com o lançamento de efluentes domésticos e industriais (JESUS et al., 2004).

Em Cariacica, o ponto de amostragem ( $20^{\circ}18'95.8''\text{S}$  e  $40^{\circ}22'13.0''\text{W}$ ) encontra-se sob influência de duas fontes de ferro particulado, sendo uma representada pelo Porto de Tubarão, localizado a 13,5 Km do ponto de amostragem, e outra representada por uma

ferrovia de transporte de minério de ferro, situada a cerca de 20 m. Além disso, esta área também está submetida ao lançamento direto de esgoto, o que faz com que esteja sob maior impacto antrópico.

A área de manguezal de Cariacica, juntamente com a da Ilha do Lameirão e do Canal da Passagem fazem parte do sistema estuarino da Ilha de Vitória, o qual ocupa aproximadamente uma área de 18 Km<sup>2</sup>.

Considerando que a direção dos ventos predominante nesse Estado foi nordeste, as áreas de manguezal localizadas em Aracruz e Conceição da Barra, as quais se encontram ao norte das fontes de emissão de ferro particulado, foram consideradas as áreas de referência para este estudo.

O manguezal de Aracruz é considerado bem preservado (JESUS et al., 2009) e ocupa uma área aproximada de 12 Km<sup>2</sup>, sendo formado pelos estuários dos rios Piraquê-açu e Piraquê-mirim. O ponto de amostragem (19°56'26.2" S e 40°12'87.0" W) está localizado no estuário do Rio Piraquê-mirim, o qual faz parte da Reserva Ecológica dos Manguezais Piraquê-açu e Piraquê-mirim. Este ponto de amostragem está localizado a 38,4 Km da fonte de ferro particulado.

O ponto de amostragem em Conceição da Barra (18°33'55.2"S e 39°43'98.1"W) é localizado na foz do Rio Itaúnas, local conhecido como Praia de Guaxindiba, que consiste de um pequeno bosque de manguezal, localizado a cerca de 30 m do mar, sendo estruturalmente mais aberto que os demais. O principal impacto sofrido por este manguezal foi o assoreamento ocorrido após a abertura de uma foz artificial, objetivando a interrupção do processo erosivo que destruiu parte de um empreendimento hoteleiro (CEPEMAR, 2004). Esse desvio interrompeu o fluxo de água para o manguezal, acarretando em grande deposição arenosa sobre o sedimento original do mangue. Este ponto está localizado a 198 Km da fonte de ferro particulado.

Os manguezais amostrados apresentam em sua composição florística as espécies *Rhizophora mangle* L., *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn. e *Avicennia schaueriana* Stapf & Leechm., sendo que o manguezal localizado em Conceição da Barra também apresenta a espécie *Avicennia germinans* (L.) Stearn como representante.

Segundo a classificação de Köppen (1948), o clima do estado do Espírito Santo é tropical, sendo do tipo Aw em Vitória, Cariacica e Aracruz e do tipo Am em Conceição da Barra.

## 5.2 Material botânico

O material botânico constou-se de folhas totalmente expandidas, situadas no terceiro ao quarto nó a partir da gema apical, sendo coletado de indivíduos adultos de *Rhizophora mangle* L. (Rhizophoraceae), *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn. (Combretaceae) e



*Avicennia schauerianna* Stapf. & Leechman (Acanthaceae). As exsicatas das espécies foram depositadas no Herbário Central da Universidade do Espírito Santo VIES, sob os números de tombo 19649, 19650 e 19651.

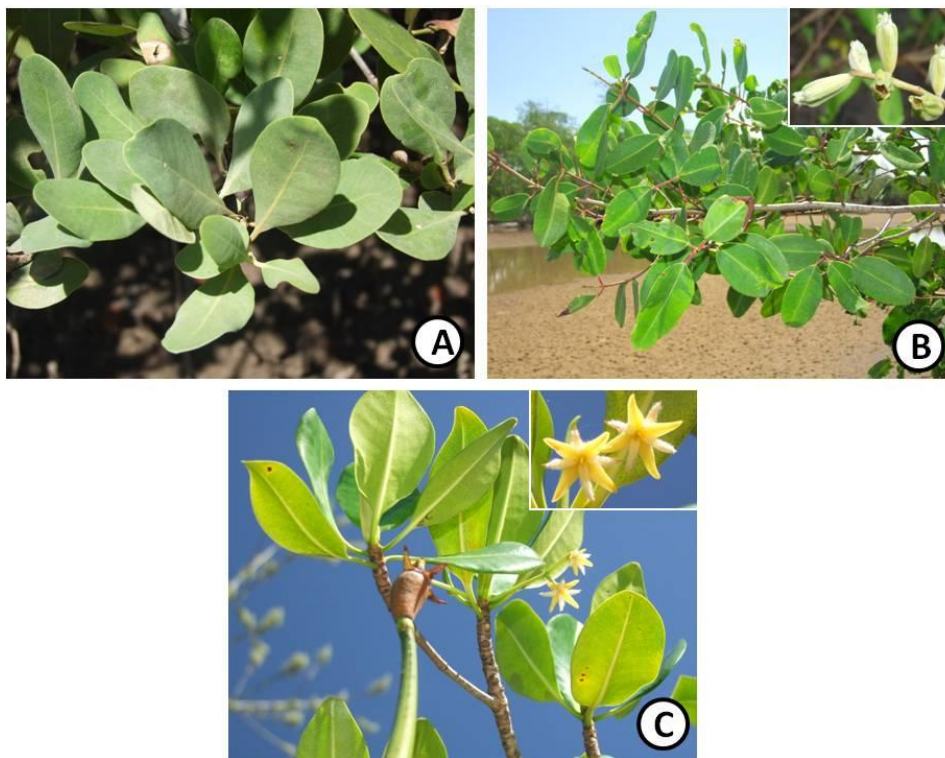


Figura 2. Aspecto foliar de *A. schaueriana* (A), *L. racemosa* (B) e *R. mangle* (C). Notar as estruturas reprodutivas em B e C.

### 5.3 Análise morfológica foliar

Para os dados de área foliar ( $\text{cm}^2$ ), massa seca (g) e massa seca/área foliar foram coletadas 10 folhas de 10 indivíduos para cada espécie. A área foliar foi mensurada com o medidor de área foliar modelo Área Mater LI-COR 3100 e a massa seca foi obtida com a pesagem das amostras após as mesmas serem secas em estufa a  $60^\circ\text{C}$ . O delineamento foi inteiramente casualizado (DIC), sendo os dados submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade ( $P < 0,05$ ) utilizando-se o programa estatístico Assistat versão 7.5 beta.

### 5.4 Estudo anatômico qualitativo

Amostras do terço mediano do limbo foram fixadas em FAA 50 (JOHANSEN, 1940) e estocadas em etanol 70%. O material foi desidratado em série etílica crescente e incluído em historresina glicol-metacrilato (Leica ®), segundo Gerrits (1964). Foram realizadas secções transversais das regiões da nervura central, área internervural e bordo com auxílio

de micrótomo rotativo, com espessura de 8  $\mu\text{m}$ . Posteriormente, os cortes foram corados com solução de Azul de Toluidina 0,05% (O'BRIEN et al., 1964) e montados em bálsamo-do-canadá. As lâminas foram analisadas ao microscópio de luz Nikon, modelo E200.

### **5.5 Estudo anatômico quantitativo**

A análise anatômica quantitativa foi realizada por meio de medições da espessura total do limbo, da cutícula, das células epidérmicas de ambas as faces da folha, da hipoderme e do parênquima clorofiliano. Para tal, foram realizadas oito medições na região internervural de quatro indivíduos, totalizando trinta e duas medições por espécie em cada área de estudo. Foi determinada também a densidade estomática e glandular ( $\text{mm}^2$ ) em ambas as superfícies da folha por meio da técnica de impressão, utilizando uma gota de adesivo instantâneo universal éster de cianoacrilato (Super-Bonder®) em uma lâmina histológica, de forma a obter a impressão da epiderme a ser analisada. Para tanto, foram analisados seis campos ópticos aleatórios da região internervural de quatro indivíduos, totalizando vinte e quatro campos ópticos em cada face foliar para cada espécie em cada área de estudo. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade ( $P < 0,05$ ), utilizando-se o programa estatístico Assistat versão 7.5 beta.

As mensurações foram feitas em analisador de imagens semi-automático Nikon, com software –Tsview, e os resultados foram registrados por meio de fotomicrografias obtidas em fotomicroscópio modelo Nikon E200 no Laboratório de Anatomia Vegetal, Setor de Botânica, Departamento de Ciências Biológicas, UFES.

### **5.6 Detecção histoquímica ferro nos tecidos foliares**

Para a detecção histoquímica do ferro nos tecidos foliares, amostras de folhas foram lavadas em água destilada a fim de retirar o depósito particulado sobre a superfície foliar. Seções transversais do terço mediano do material vegetal fresco, obtidas à mão-livre, foram submetidas a uma solução de ferrocianeto de potássio 4% e ácido clorídrico 4%, denominada azul de Prússia (BANCROFT et al., 1996). Após 24 horas de reação, os cortes foram lavados e montados em água entre lâmina e lamínula. A reação foi considerada positiva nas regiões que apresentaram coloração azul. Cortes de material sem coloração também foram analisados paralelamente, constituindo o negativo.

### **5.7 Determinação do teor de ferro foliar**

Foram utilizadas 10 folhas coletadas de quatro indivíduos, totalizando 40 folhas por espécie. As folhas foram lavadas em água destilada e depois em água ultrapura, sendo, após esse procedimento, secas em estufa à temperatura de 37,5 °C até atingir peso

constante. Em seguida, as folhas foram trituradas com auxílio de grau e pistilo e o material vegetal foi submetido à digestão em microondas (Anton Paar 3000 multiwave) com uma solução de 10 mL de ácido nítrico p.a adicionalmente purificado em aparelho para destilação de ácidos (Subboiling distillation, Berghof Alemanha). Os teores de ferro foram determinados de acordo com o método 200.8 descrito pela USEPA, por meio de ICP-MS, utilizado-se o material de referência Standard Reference Material 1547. Todas as amostras analisadas apresentaram pelo menos 80% de recuperação, conforme recomendação da USEPA.

O material foi processado e analisado no Instituto Superior de Investigação, Desenvolvimento e Serviços em Alimentos (ISIDSA), da Universidade Nacional de Córdoba (UNC) na Argentina.

### **5.8 Determinação do teor de ferro na secreção salina**

Amostras de 10 folhas de cinco indivíduos de cada espécie foram lavadas com detergente neutro Extran 5% e, posteriormente, com água ultrapura sucessivas vezes. Os ramos amostrados foram envolvidos com sacos plásticos a fim de evitar qualquer depósito de material particulado ou de serem lavados por precipitação pluviométrica. Teve-se o cuidado de utilizar sacos plásticos transparentes a fim de minimizar as interferências na radiação fotossinteticamente ativa incidente nas folhas, o que poderia causar o fechamento estomático e conseqüente diminuição do fluxo transpiratório e da secreção (conforme observado por SCHOLANDER *et al.* 1962). Além disso, também foram feitas pequenas aberturas na parte inferior dos sacos para que não houvesse saturação na umidade do ar, o que também poderia causar uma diminuição no fluxo transpiratório. Após 24h, as folhas foram imersas em tubos de polipropileno TPP contendo 50 mL de ácido nítrico ultrapuro 0,1% por aproximadamente 3 s (adaptado de MANOUSAKI *et al.* 2008). Os tubos utilizados foram previamente descontaminados utilizando Extran neutro 5% e HNO<sub>3</sub> 15% por 24h cada, e lavados finalmente com água ultra pura. A análise foi realizada em triplicata utilizando um espectrômetro de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS) ZEE nit 700 da Analytik Jena com um amostrador automático de líquidos MPE 60.

As análises foram realizadas em parceria com Laboratório de Pesquisa e Desenvolvimento de Metodologias para Análises de Petróleos - LabPetro, departamento de Química, UFES.

### **5.9 Análise química do material particulado sedimentado sobre a superfície foliar**

Para análise química do material particulado depositado sobre a superfície foliar (face adaxial das folhas), duas folhas de cada espécie foram coletadas em cada área de estudo, totalizando seis amostragens em cada área. As folhas foram desidratadas em estufa

a 60°C e mantidas em dessecador até o momento da análise. As amostras foram fixadas em placas de cobre com auxílio de fita de carbono e foram metalizadas com uma camada de ouro de aproximadamente 20nm de espessura com metalizador modelo Emitech K550X. As análises foram realizadas na região internervural do terço mediano com o microscópio eletrônico de varredura modelo EVO 40 Zeiss. A porcentagem dos elementos químicos contidos em cada partícula foi determinada por meio de espectrometria de energia dispersiva de raio-x (EDS), sendo feitas, em média, 15 análises por amostra.

As análises foram realizadas em parceria com o Grupo de Poluição do Ar da UFES, Departamento de Engenharia Ambiental e Engenharia Mecânica.

### **5.10 Análise físico-química do sedimento**

Durante a maré baixa, foram coletadas três amostras de sedimento (0-20 cm de profundidade) entre as raízes de cada espécie, as quais foram homogeneizadas resultando em três repetições para cada área estudada. As amostras foram consideradas repetições, pois os manguezais estudados não apresentam qualquer padrão de zonação, indicando que as espécies estavam sob condições similares.

Para análise de ferro, as amostras foram refrigeradas e depois secas em estufa de aço inoxidável à temperatura de 37,5° C até que se mantivesse um peso constante. O material seco foi triturado e peneirado em 4 malhas distintas (2mm, 1mm, 120µm, 65µm, respectivamente), sendo posteriormente digerido em uma mistura de 8 mL de ácido nítrico e 2 mL de ácido clorídrico em microondas Anton Paar 3000 Multiwave. A determinação do teor de ferro foi feita em triplicata com auxílio de espectrômetro de massa com fonte de plasma de acoplamento indutivo (ICP-MS), modelo Agilent Technologies 7700 Series, sendo utilizado o material de referência EnviroMAT Sewage Sludge BE-1. Todas as amostras analisadas apresentaram pelo menos 80% de recuperação, conforme recomendação da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA). O material foi processado e analisado no Instituto Superior de Investigação, Desenvolvimento e Serviços em Alimentos (ISIDSA), da Universidade Nacional de Córdoba (UNC) na Argentina.

A salinidade de cada amostra foi obtida a partir da razão entre medidas de condutividade. A análise física e demais análises químicas foram feitas no Laboratório de Análises Agronômicas e Consultoria para análise – Fullin, em Linhares. A granulometria do sedimento foi determinada pelo método do densímetro (EMBRAPA, 1997) e a classificação textural seguiu de acordo com a Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. O pH e o teor de matéria orgânica foram determinados conforme Abreu et al. (2006).

### **5.11 Avaliação da radiação fotossinteticamente ativa**

Em cada área de estudo foram realizadas 6 medições da radiação fotossinteticamente ativa incidente ( $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ), com o sensor Field Scout Quantum Light Meters, sendo usado o valor obtido pela média aritmética para representar cada área de estudo. Todas as medições foram feitas em dias sem nuvens, entre 10:00 e 11:00h da manhã.

#### **5.12 Monitoramento de PTS e parâmetros meteorológicos**

Dados de partículas totais em suspensão (PTS), precipitação pluviométrica e velocidade dos ventos foram obtidos junto à Rede Automática de Monitoramento da Qualidade do Ar da Grande Vitória – RAMQAR, sob responsabilidade do Instituto Estadual de Meio Ambiente (IEMA), junto ao Instituto Nacional de Meteorologia – INMET e à Estação Meteorológica Automática da Empresa Fibria, no período de 09/2009 a 03/2010.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, M. F.; ANDRADE, J. C.; FALCÃO, A. A. Protocolos de análises químicas. In: Andrade, J. C., Abreu, M. F. (Org.). **Análise química de resíduos sólidos para monitoramento e estudos agroambientais**. Campinas: IAC, 2006. p.121-158.
- ARNDT, U. & SCHWEIZER, B. The Use of Bioindicators for Environmental Monitoring in Tropical and Subtropical Countries. In: Ellemberg, H. (Ed.). **Biological Monitoring: Signals from the Environment**. Braunschweig, 1991. p.199-260.
- BALL, M. C. Ecophysiology of mangroves. **Trees**, v. 2, p. 129-142, 1988.
- BALL, M. C. Mangrove species richness in relation to salinity and waterlogging: a case study along the Adelaide River floodplain, northern Australia. **Global Ecology and Biogeography Letters**, v. 7, p. 73-82, 1998.
- BANCROFT, J. D.; STEVENS, A.; TURNER, D. R. **Theory and practice of histological techniques**. New York: Churchill Livingstone, 1996.
- BERNINI, E.; REZENDE, C. E. Variação estrutural em florestas de mangue do estuário do rio Itabapoana, ES-RJ. **Biotemas**, v. 23, p. 49-60, 2010.
- BERNINI, E.; SILVA, M. A. B.; CARMO, T. M. S.; CUZZUOL, G. R. F. Composição química do sedimento e de folhas das espécies do manguezal do estuário do Rio São Mateus, Espírito Santo, Brasil. **Revista Brasil. Bot.**, V.29, n.4, p.689-699, 2006.
- CAMILLERI, J. C.; RIBI, G. Leaf Thickness of mangroves (*Rhizophora mangle*) growing in different salinities. **Biotropica**, v. 15, n. 2, p.139-141, 1983.
- CARMO, T. M. S.; BRITO-ABAURRE, M. G.; SENNA-MELO, R. M.; ZANOTTIXAVIER, S.; COSTA, M. B.; HORTA, M. M. M. Os manguezais da Baía Norte de Vitória, Espírito Santo: Um ecossistema ameaçado. **Rev. Brasil. Biol.**, v. 55, n. 4, p. 801-818, 1995.
- CEPEMAR, 2004. **Plano de manejo do Parque Estadual de Itaúnas**. Encarte 04 - meio biótico. Vitória: Cepemar/Petrobras.
- CETESB: Introdução ao Controle da Poluição Atmosférica. Disponível em: <[http://www.universoambiental.com.br/novo/artigos\\_ler.php?canal=5&canallocal=6&canalsub2=16&id=44](http://www.universoambiental.com.br/novo/artigos_ler.php?canal=5&canallocal=6&canalsub2=16&id=44)> Acesso em: 22 out 2010.
- CRAM, W. J.; TORR, P. G.; ROSE, D. A. Salt allocation and leaf development and leaf fall in mangroves. **Trees**, v. 16, p. 112–119, 2002.
- CUZZUOL, G. R. F.; CAMPOS, A. Aspectos nutricionais na vegetação de manguezal do estuário do Rio Mucuri, Bahia, Brasil. **Revta brasil. Bot.**, V.24, n. 2, p. 227-234, 2001.
- DE TEMMERMAN, L.; NIGEL, J.; GARREC, J.P.; KLUMPP, A.; KRAUSE, G.H.M.; TORNNEIJCK, E.G. Biomonitoring of air pollutants with plants – considerations for the future. In: KLUMPP, ANSEL, KLUMPP (Eds.). **Urban air pollution bioindication and environmental awareness**. Germany: CuvillierVerlag, 2004, p. 337– 373.

Embrapa, 1997. **Manual de métodos de análise de solo**. EMBRAPA - Centro Nacional de Pesquisa de Solo, Rio de Janeiro.

FALQUETO, A. R.; SILVA, D. M.; FONTES, R. V. Photosynthetic performance of mangroves *Rhizophora mangle* and *Laguncularia racemosa* under field conditions. **R. Árvore**, v.32, n. 3, p. 577-582, 2008.

FELLER, I.C. Effects of Nutrient Enrichment on Leaf Anatomy of Dwarf *Rhizophora mangle* L. (Red Mangrove). **Biotropica**, v. 28, p. 13-22, 1996.

FERNANDES, A. J.; PERIA, L. C. S. Características do ambiente. In: Yara Schaeffer-Novelli (Ed.). **Manguezal: Ecossistema entre a terra e o mar**. São Paulo: Caribbean ecological research, 1995, pp.13-15.

FRANCISCO, A. M.; Díaz, M.; Romano, M.; Sánchez, F. Descripción morfoanatomia de los tipos de glândulas foliares em El mangle blanco *Laguncularia racemosa* L. Gaertn (f.). **Acta Microscopica**, V. 18, n. 3, p. 237-252, 2009.

GERRITS, P.O. **The application of glycol metacrylate histotechnology: some fundamental principles**. Germany: Leica GmbH, 1964.

IEMA. **Relatório da Qualidade do Ar na Região da Grande Vitória, 2005**. Cariacica, 2006.

IEMA. **Relatório da Qualidade do Ar na Região da Grande Vitória, 2006**. Cariacica, 2007.

INSTITUTO BRASILEIRO DE EXECUTIVOS DE FINANÇAS – IBEF. Disponível em: <<http://ibefes.ning.com/page/ibefes-faz-visita-tecnica-a>>. Acesso em: 13 fev 2011.

INSTITUTO DO PATRIMÔNIO HISTÓRICO E ARTÍSTICO NACIONAL. Disponível em: <<http://www.iphan.gov.br>>. Acesso em: 20 ago 2009.

JESUS, H. C.; COSTA, E. A.; MENDONÇA, A. S. F.; ZANDONADE, E. Distribuição de metais pesados em sedimentos do sistema estuarino da Ilha de Vitória-ES. **Quim. Nova** v. 27, p. 378-386, 2004.

JESUS, H. C.; SANTANA, E. J.; BELO, M. J.; SILVA, L. B.; CEOTTO, C.S.; CASTRO NEVES, D.M.; CASTRO, L.B. **Avaliação da poluição ambiental dos rios Piraquê-açu e Piraquê-mirim (Santa Cruz – ES) através da análise de águas, biomonitoros e sedimentos**. Relatório Técnico- Projeto Aracruz Celulose, Processo UFES nº 034373/2007-80, 2009.

JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill Co., 1940.

KATHIRESAN, K.; BINGHAM, B. L. Biology of Mangroves and Mangrove Ecosystems. **Advances in marine biology**, v. 40, p. 81-251, 2001.

KJERFVE, B.; LACERDA, L. D. Mangroves of Brazil. In: Lacerda LD (Ed.). **Conservation and sustainable utilization of mangrove forest in Latin America and Africa regions**. Part I - Latin America. Mangrove Ecosystem Technical Report No. 2. ITTO/ISME, Okinawa: International Society for mangrove ecosystems, 1993, pp. 245-272.

- KLUMPP, A. Utilização de bioindicadores de poluição em condições temperadas e tropicais. In: MAIA, N. B.; MARTOS, H. L.; BARRELLA, W. (Org). **Indicadores ambientais: Conceitos e aplicações**. São Paulo: Editora da PUC-SP, 2001.
- KUKI, K. N.; OLIVA, M. A.; PEREIRA, E. G. Iron Ore Industry Emissions as a Potential Ecological Risk Factor for Tropical Coastal Vegetation. **Environmental Management** v. 42, p.111–121, 2008.
- LACERDA, L. D.; ITTEKKOT, V.; PATCHINEELAM, S. R.. Biogeochemistry of Mangrove Soil Organic Matter: a Comparison Between *Rhizophora* and *Avicennia* Soils in South-eastern Brazil. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 40, p. 713–720, 1995.
- LIU, Y.; TAM, N. F. Y.; YANG, J. X.; PI, N.; B, WONG, M. H.; YE, Z. H. Mixed heavy metals tolerance and radial oxygen loss in mangrove seedlings. **Marine Pollution Bulletin**, v. 58, p. 1843–1849, 2009.
- LOPES, S. A.; OLIVA, M. A.; MARTINEZ, C. A. Impacto das imissões de dióxido de enxofre e deposição de material particulado de ferro em espécies vegetais da restinga: avaliação ecofisiológica. In: ESPÍNDOLA, E.; PASCHOAL, C.; ROCHA, O.; BOHRER, M.; OLIVEIRA NETO, A. (Eds.). **Ecotoxicologia**. São Carlos: Rima Artes e Textos, 2000, p. 53-71.
- MACFARLANE, G. R.; BURCHETT, M. D. Toxicity, growth and accumulation relationships of copper, lead and zinc in the grey mangrove *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. **Marine Environmental Research**, v. 54, p. 65–84, 2002.
- MACFARLANE, G. R.; PULKOWNIK, A.; BURCHETT, M. D. Accumulation and distribution of heavy metals in the grey mangrove, *Avicennia marina* (Forsk.)Vierh.: biological indication potential. **Environmental Pollution**, v. 123, p. 139–151, 2003.
- MACFARLANE, G.R. & BURCHETT, M.D. Cellular distribution of copper, lead and zinc in the grey mangrove, *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. **Aquatic Botany**, v. 68, p. 45–59, 2000.
- MACHADO, W.; GUEIROS, B. B.; LISBOA-FILHO, S. D.; LACERDA, L. D. Trace metals in mangrove seedlings: role of iron plaque formation. **Wetlands Ecology and Management**, v. 13, p.199–206, 2005.
- MACHADO, W.; SILVA-FILHO, E. V.; OLIVEIRA, R. R.; LACERDA, L. D. Trace metal retention in mangrove ecosystems in Guanabara Bay, SE Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 44, p. 1277–1280, 2002.
- MCKEE, K. L. Soil Physicochemical Patterns and Mangrove Species Distribution--Reciprocal Effects?. **Journal of Ecology**, Vol. 81, N. 3, p. 477-487,1993.
- MANOUSAKI, E.; KADUKOVA, J.; PAPADANTONAKIS, N.; KALOGERAKIS, N. Phytoextraction and phytoexcretion of Cd by the leaves of *Tamarix smymensis* growing on contaminated non-saline and saline soils. **Environ. Res.**, v. 106, n. 3, p. 326-332, 2008.
- MARTÍ, C.; ANDRÉS, M. **Principios de ecotoxicología: diagnóstico, tratamiento y gestión del medio ambiente**. Editorial Tébar, 2007.



- MENEZES, N. L. Rhizophores in *Rhizophora mangle* L: an alternative interpretation of so-called "aerial roots". **An. Acad. Bras. Ciênc.**, v. 78, n. 2, p. 213-226, 2006.
- NAIDOO, G.; NAIDOO, Y. Coal Dust Pollution Effects on Wetland Tree Species in Richards Bay, South Africa. **Wetlands Ecology and Management**, V. 13, p. 509-515, 2005.
- NAIDOO, G.; CHIRKOOT, D. The effects of coal dust on photosynthetic performance of the mangrove, *Avicennia marina* in Richards Bay, South Africa. **Environmental Pollution**, v. 127, p. 359–366, 2004.
- O'BRIEN, T. P.; FEDER, N.; MCCULLY, M. E. Polychromatic staining of plant cell walls by Toluidine blue O. **Protoplasma**, v. 59, p. 368-373. 1964.
- OLIVA, M. A.; CAMBRAIA, J. ; NEVES, N. R.; LOPES, S. A.; KUKI, K. N.; SILVA, L. C. da; GUSMÃO, E. F. Espécies vegetais bioindicadoras da poluição atmosférica. In: NOGUEIRA, R. J. M. C.; ARAÚJO, E. L.; WILLADINO, L. G.; CAVALCANTE, U. M. T. (Org.). **Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas**. Recife: MXM Gráficas e editora, 2005, p. 457-467.
- OLIVEIRA, C. R. M.; OLIVA, M. A.; PEREIRA, E. G. Efeito do Material Particulado de Ferro no Teor de Pigmentos de *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. 2, p. 681-683, 2007.
- PALING, E. I.; HUMPHRIES, G.; MCCARDLE, I.; THOMSON, G. The effects of iron ore dust on mangroves in Western Australia: Lack of evidence for stomatal damage. **Wetlands Ecology and Management**, v. 9, p. 363–370, 2001.
- PARIDA, A. K.; DAS, A. B; MITTRA, B. Effects of salt on growth, ion accumulation photosynthesis and leaf anatomy of the mangrove, *Bruguiera parviflora*. **Trees Struct Funct**, v. 18, p. 167–174, 2004.
- PARIDA, A. K.; JHA, B. Salt tolerance mechanisms in mangroves: a review. **Trees**, v. 24, p. 199–217, 2010.
- PEREIRA, F. V.; FOLETTO, F.; MOREIRA T. M.; GOMES, J. M. L.; BERNINI, E. Estrutura da vegetação em duas áreas com diferentes históricos de antropização no manguezal de Anchieta, ES. **Boletim do Laboratório de Hidrobiologia**, v. 22, p. 01-08. 2009.
- RAMOS, M. G. M.; GERALDO, L. P. Avaliação das espécies de plantas *Avicennia schaueriana*, *Laguncularia racemosa* e *Rhizophora mangle* como bioindicadoras de poluição por metais pesados em ambientes de mangues. **Eng. sanit. ambient.**, V.12, n. 4, p. 440-445, 2007.
- RESOLUÇÃO CONAMA nº. 003/90 (4th ed.). Brasília.
- ROCHA, A. C.; CANAL, E. C.; CAMPOSTRINI, E.; REIS, F. O.; CUZZUOL, R. F. Influence of chromium in *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn f. physiology. **Brazilian Society of Plant Physiology**, v. 21, n. 2, p. 87- 94, 2009.

- SALGADO, P. E. T. **Informações gerais e ecotoxicológicas de material particulado**. Série cadernos de referência ambiental. V. 14. Salvador: Centro de Recursos Ambientais – CRA, 2003.
- SARANGI, R. K.; KATHIRESAN, K.; SUBRAMANIAN, A. N. Metal concentrations in five mangrove species of the Bhitarkanika, Orissa, east coast of India. **Indian Journal of Marine Species**. V. 31, n. 3, p. 251-253, 2002.
- SCHOLANDER, P. F.; HAMMEL, H. T.; HEMMINGSON, E. A.; GAREY, W. Salt balance in mangroves. **Pl. Physiol.** v. 37, p. 722-729, 1962.
- SILVA, C. A. R.; LACERDA, L. D.; OVALLE, A. R.; REZENDE, C. E.. The dynamics of heavy metals through litterfall and decomposition in a red mangrove Forest. **Mangroves and Salt Marshes**, v. 2, p. 149–157, 1998.
- SILVA, L. C.; AZEVEDO, A. A. Anatomia de plantas de Restinga e sua aplicação como ferramenta para a bioindicação. In: MENEZES, L. F. T.; PIRES, F. R.; PEREIRA, O. J. (Org.). **Ecossistemas costeiros do Espírito Santo – Conservação e Restauração**. Vitória: EDUFES, 2007.
- SILVA, L. C.; OLIVA, M. A.; AZEVEDO, A. A.; ARAÚJO, J. M.. Responses of restinga plant species to pollution from an iron pelletization factory. **Water, Air and Soil Pollution, Holanda**, v. 175, p. 241-256, 2006.
- SILVA, M. A. B.; BERNINI, E.; CARMO, T. M. S. Características estruturais de bosques de mangue do estuário do rio São Mateus, ES, Brasil. **Acta bot. bras.**, v. 19, n. 3, p. 465-471, 2005.
- SOBRADO, M. A. Influence of external salinity on the osmolality of xylem sap, leaf tissue and leaf gland secretion of the mangrove *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn. **Trees**, v. 18, p. 422–427, 2004.
- SOBRADO, M. A. Leaf characteristics and gas exchange of the mangrove *Laguncularia racemosa* as affected by salinity. **Photosynthetica**, v. 43, p. 217-221, 2005.
- SOBRADO, M. A. Relationship of water transport to anatomical features in the mangrove *Laguncularia racemosa* grown under contrasting salinities. **New Phytologist**, v. 173, p. 584–591, 2007.
- SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008.
- SUÁREZ, N.; SOBRADO, M. A. Adjustments in leaf water relations of mangrove (*Avicennia germinans*) seedlings grown in a salinity gradient. **Tree Physiology**, v. 20, p. 277–282, 2000.
- SUGIYAMA, M. A flora do manguezal. In: Yara Schaeffer-Novelli (Ed.). **Manguezal: Ecossistema entre a terra e o mar**. São Paulo: Caribbean ecological research, p. 17-21.

TAM, N. F. Y.; WONG, Y.-S. Accumulation and distribution of heavy metals in a simulated mangrove system treated with sewage. **Hydrobiologia**, v. 352, p. 67–75, 1997.

TOMLINSON, P. B. **The botany of mangroves**. New York: Cambridge University Press, 1986.

TÜFFERS, A. V., NAIDOO, G., WILLERT, D. J. V. The contribution of leaf angle to photoprotection in the mangroves *Avicennia marina* (FORSSK.) VIERH. and *Bruguiera gymnorhiza* (L.) LAM. under field conditions in South Africa. **Flora**, v. 194, p. 267-275, 1999.

VALE, C. C.; FERREIRA, R. D. Os manguezais do litoral do Estado do Espírito Santo. In: **Anais do Simpósio de Ecossistemas da Costa Brasileira**. São Paulo: ACIESP, v. 1, p. 88-94, 1998.

VANNUCCI, M. What is so special about mangroves?. **Brazilian Journal of Biology**, v. 61, n. 4, p. 599-603, 2001.

VANNUCCI, M. **Os manguezais e nós: uma síntese de percepções**. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 1999.

VARJABEDIAN, R. Impacto sobre os manguezais. In: Yara Schaeffer-Novelli (Ed.). **Manguezal: Ecossistema entre terra e mar**. São Paulo: Caribbean ecological research, 1995, p. 49-52.

YE, Y.; TAM, N. F. Y.; LU, C. Y.; WONG, Y. S. Effects of salinity on germination, seedling growth and physiology of three saltsecreting mangrove species. **Aquat Bot**, v. 83, p. 193–205, 2005.

YOKOYA, N. S. Distribuição e origem. In: Yara Schaeffer-Novelli (Ed.). **Manguezal: Ecossistema entre a terra e o mar**. São Paulo: Caribbean ecological research, 1995, p. 9-12.

ZHOU, Y-W.; ZHAO, B.; PENG, Y-S; CHEN, G-Z. 2010. Influence of mangrove reforestation on heavy metal accumulation and speciation in intertidal sediments. **Marine Pollution Bulletin** 60: 1319–1324.

## **7. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os resultados obtidos com este estudo foram utilizados para a produção de três artigos, conforme apresentados a seguir.

**Morfoanatomia, histoquímica e concentração de ferro em folhas de *Avicennia schaueriana* Stapft & Leechm, *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn. e *Rhizophora mangle* L. ocorrentes em cinco áreas de manguezal sujeitas a diferentes níveis de poluição por ferro particulado**

Hiulana Pereira Arrivabene\*<sup>a</sup>, Iara da Costa Souza<sup>b</sup>, Daniel Alberto Wunderlin<sup>c</sup>, Melina Moreira Conti<sup>d</sup>, Camilla Rozindo Dias Milanez<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Espírito Santo, 29075-910, Vitória, Brasil.

<sup>b</sup> Departamento de Ciências Fisiológicas, Universidade Federal de São Carlos, 13565-905, São Carlos, Brasil.

<sup>c</sup> Instituto Superior de Investigación, Desarrollo e Servicios em Alimentos, Universidade Nacional de Córdoba, 5000, Córdoba, Argentina.

<sup>d</sup> Departamento de Engenharia Ambiental, Universidade Federal do Espírito Santo, 29075-910, Vitória, Brasil.

\* Correspondência do autor: 55 27 33357797, hiulanaa@yahoo.com.br

O manuscrito será submetido ao periódico *Environmental Pollution*, após tradução para língua inglesa.

## RESUMO

No Estado do Espírito Santo, Brasil, alguns manguezais estão sujeitos à poluição atmosférica por ferro particulado, proveniente de atividades mineradoras. Contudo, pouco se sabe sobre o efeito deste poluente em espécies de mangue. Objetivou-se analisar comparativamente a morfoanatomia, histoquímica e concentração de ferro em folhas de *Avicennia schaueriana* Stapft & Leechm, *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn. e *Rhizophora mangle* L. em cinco áreas de manguezal do Estado do Espírito Santo, sujeitas a diferentes níveis de poluição por ferro particulado. Em todas as áreas estudadas os indivíduos não apresentaram danos morfológicos ou estruturais nas folhas. O acúmulo de material particulado sedimentado na superfície foliar foi maior em *A. schaueriana* e *L. racemosa*, as quais possuem glândulas de sal. Os maiores teores de ferro encontrados em folhas de *A. schaueriana* e *L. racemosa* localizadas no manguezal sob maior influência de ferro particulado sugerem a absorção foliar desse elemento. O emprego do teste histoquímico com azul de Prússia não mostrou ser um método adequado para indicar o potencial de bioacumulação de ferro em folhas de *A. schaueriana*, *L. racemosa* e *R. mangle*.

Palavras-chave: anatomia, folhas, material particulado, mangue, poeira.

## INTRODUÇÃO

Devido à sua distribuição costeira e proximidade de centros urbanos, os manguezais freqüentemente são expostos a diversas fontes de poluição (Defew et al., 2005; Peters et al., 1997; Silva Filho et al., 1998; Tam e Wong, 2000; Tam e Yao, 1998), como o material particulado. A poluição particulada do ar constitui-se de uma mistura de partículas sólidas e/ou líquidas, que variam em tamanho, forma e composição, podendo resultar de processos naturais ou ter origem antropogênica (Salgado, 2003). Os primeiros estudos sobre o efeito da deposição do material particulado nas plantas datam, pelo menos, do início do século XX (Farmer, 1993), contudo, pouco se sabe sobre o seu efeito em espécies de mangue (Naidoo e Chirkoot, 2004; Naidoo e Naidoo, 2005; Paling et al., 2001).

Dentre as conseqüências do material particulado sobre as folhas destacam-se clorose e necrose (Ali, 1993), diminuição no teor de pigmentos fotossintéticos (Prusty et al., 2005), redução da fotossíntese e trocas gasosas (Naidoo e Chirkoot, 2004) e alterações no balanço térmico (Hirano et al., 1995). A absorção foliar de ferro a partir do material particulado depositado sobre a superfície de folhas de espécies de *Restinga* foi relatada por Silva e colaboradores (2006). Além disso, o material particulado pode afetar a vegetação indiretamente, devido a sua incorporação no solo, elevando a concentração de alguns elementos em níveis fitotóxicos (Grantz et al., 2003).

As espécies de mangue possuem relativa tolerância aos metais pesados presentes no sedimento (por exemplo, Macfarlane e Burchett, 2002), os quais ficam retidos em grande parte na raiz (Liu et al., 2009; Macfarlane et al., 2003; Tam e Wong, 1997). Por essa razão, a quantidade de metais presentes na parte aérea das plantas é muito inferior quando comparado a sua concentração no sedimento (Machado et al., 2002; Saifullah et

al., 2004; Sarangi et al., 2002). Porém, em ambientes perturbados, o equilíbrio e a dinâmica podem ser afetados, acarretando na mobilização dos metais acumulados com conseqüente aumento na flora e nas cadeias alimentares costeiras (Vanucci, 2001).

O ferro é um micronutriente essencial às plantas, envolvido em importantes funções metabólicas, como na biosíntese de clorofila e das proteínas catalase, peroxidases e superóxido dismutase (Marschner, 1999). Contudo, em níveis muito elevados, esse elemento pode ser tóxico às plantas, acarretando menores taxas fotossintéticas e estresse oxidativo (Kampfenkel et al., 1995). O excesso de ferro pode ainda danificar lipídios, proteínas e DNA pela formação de radicais hidroxila na reação de Fenton (Connolly e Guerinot, 2002).

No Estado do Espírito Santo, Brasil, alguns manguezais estão sujeitos à poluição atmosférica por ferro particulado (MPfe) proveniente de atividades mineradoras, uma vez que esse Estado, detém o maior complexo de produção e exportação de pelotas de ferro do mundo (IBEF, 2011).

Neste contexto, objetivou-se analisar comparativamente a morfoanatomia, histoquímica e concentração de ferro em folhas de *Avicennia schaueriana* Stapft & Leechm, *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn. e *Rhizophora mangle* L. em cinco áreas de manguezal do Estado do Espírito Santo, Brasil, sujeitas a diferentes condições de poluição por ferro particulado.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

### **Área de estudo**

Para o presente estudo foram selecionadas cinco áreas de manguezal localizadas em quatro municípios do Estado do Espírito Santo: Vitória, Cariacica, Aracruz e



Conceição da Barra. Para o município de Vitória foram escolhidos dois pontos de amostragem, sendo um no Canal da Passagem e outro na Ilha do Lameirão. O Porto de Tubarão ( $20^{\circ}17'03.8''\text{S}$  e  $40^{\circ}14'24.9''\text{W}$ ), localizado em Vitória, é o principal exportador de minério de ferro do mundo (IBEF, 2011) e foi considerado neste estudo, como sendo a principal fonte de ferro particulado no Estado (Fig. 1).

Os pontos escolhidos no Canal da Passagem ( $20^{\circ}18'95.7''\text{S}$  e  $40^{\circ}22'12.8''\text{W}$ ) e na Ilha do Lameirão ( $20^{\circ}14'60.6''\text{S}$  e  $40^{\circ}18'68.6''\text{W}$ ) estão localizados a 7,2 Km e 8,0 Km da fonte de ferro particulado, respectivamente, e sofrem com o lançamento de efluentes domésticos e industriais (Jesus et al., 2004).

Em Cariacica, o ponto de amostragem ( $20^{\circ}18'95.8''\text{S}$  e  $40^{\circ}22'13.0''\text{W}$ ) encontra-se sob influência de duas fontes de ferro particulado, sendo uma representada pelo Porto de Tubarão, localizado a 13,5 Km do ponto de amostragem, e outra representada por uma ferrovia de transporte de minério de ferro, situada a cerca de 20 m. Além disso, está submetida ao lançamento direto de esgoto, o que faz com que esta área esteja sob maior impacto antrópico.

A área de manguezal de Cariacica, juntamente com a da Ilha do Lameirão e do Canal da Passagem fazem parte do sistema estuarino da Ilha de Vitória, o qual ocupa aproximadamente uma área de 18 Km<sup>2</sup>.

Considerando que a direção dos ventos predominante nesse Estado foi nordeste, as áreas de manguezal localizadas em Aracruz e Conceição da Barra, as quais se encontram ao norte das fontes de emissão de ferro particulado, foram consideradas as áreas de referência para este estudo.

O manguezal de Aracruz é considerado bem preservado (Jesus et al., 2009) e ocupa uma área aproximada de 12 Km<sup>2</sup>, sendo formado pelos estuários dos rios Piraquê-açú e Piraquê-mirim. O ponto de amostragem ( $19^{\circ}56'26.2''\text{S}$  e  $40^{\circ}12'87.0''\text{W}$ )

está localizado no estuário do Rio Piraquê-mirim, o qual faz parte da Reserva Ecológica dos Manguezais Piraquê-açu e Piraquê-mirim. Este ponto de amostragem está localizado a 38,4 Km da fonte de ferro particulado.

O ponto de amostragem em Conceição da Barra (18°33'55.2"S e 39°43'98.1"W) é localizado na foz do Rio Itaúnas, local conhecido como Praia de Guaxindiba, que consiste de um pequeno bosque de manguezal, localizado a cerca de 30 m do mar, sendo estruturalmente mais aberto que os demais. O principal impacto sofrido por este manguezal foi o assoreamento ocorrido após a abertura de uma foz artificial, objetivando a interrupção do processo erosivo que destruíra parte de um empreendimento hoteleiro (Cepemar, 2004). Esse desvio interrompeu o fluxo de água para o manguezal, acarretando em grande deposição arenosa sobre o sedimento original do mangue. Este ponto está localizado a 198 Km da fonte de ferro particulado.

Os manguezais amostrados apresentam em sua composição florística as espécies *Rhizophora mangle* L., *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn. e *Avicennia schaueriana* Stapf & Leechm., sendo que o manguezal localizado em Conceição da Barra também apresenta a espécie *Avicennia germinans* (L.) Stearn como representante.

Segundo a classificação de Köppen (1948), o clima do estado do Espírito Santo é tropical, sendo do tipo Aw em Vitória, Cariacica e Aracruz e do tipo Am em Conceição da Barra.

### **Material botânico**

O material botânico constou-se de folhas totalmente expandidas, situadas no terceiro ao quarto nó a partir da gema apical, sendo coletado de quatro indivíduos adultos de *Rhizophora mangle* L. (Rhizophoraceae), *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn. (Combretaceae) e *Avicennia schaueriana* Stapf. & Leechman (Acanthaceae).

As exsicatas das espécies foram depositadas no Herbário Central da Universidade do Espírito Santo VIES, sob os números de tombo 19649, 19650 e 19651. A amostragem foi realizada em fevereiro de 2010, após dois meses de intensa seca.

### **Monitoramento de PTS e parâmetros meteorológicos**

Dados de partículas totais em suspensão (PTS), precipitação pluviométrica e velocidade dos ventos foram obtidos junto à Rede Automática de Monitoramento da Qualidade do Ar da Grande Vitória – RAMQAR, sob responsabilidade do Instituto Estadual de Meio Ambiente (IEMA), junto ao Instituto Nacional de Meteorologia – INMET e à Estação Meteorológica Automática da Empresa Fibria, no período de 09/2009 a 03/2010.

### **Análise química do material particulado sedimentado sobre a superfície foliar**

Para análise química do material particulado depositado sobre a superfície foliar (face adaxial das folhas), duas folhas de cada espécie foram coletadas em cada área de estudo, totalizando seis amostragens em cada área. As folhas foram desidratadas em estufa a 60°C e mantidas em dessecador até o momento da análise. As amostras foram fixadas em placas de cobre com auxílio de fita de carbono e foram metalizadas com uma camada de ouro de aproximadamente 20nm de espessura com metalizador modelo Emitech K550X. As análises foram realizadas na região internervural do terço mediano com o microscópio eletrônico de varredura modelo EVO 40 Zeiss. A porcentagem dos elementos químicos contidos em cada partícula foi determinada por meio de espectrometria de energia dispersiva de raio-x (EDS), sendo feitas, em média, 15 análises por amostra.

### **Análise físico-química do sedimento**

Durante a maré baixa, foram coletadas três amostras de sedimento (0-20 cm de profundidade) entre as raízes de cada espécie, as quais foram homogeneizadas resultando em três repetições para cada área estudada. As amostras foram consideradas repetições, pois os manguezais estudados não apresentam qualquer padrão de zonação, indicando que as espécies estavam sob condições similares.

Para análise de ferro, as amostras foram refrigeradas e depois secas em estufa de aço inoxidável à temperatura de 37,5° C até que se mantivesse um peso constante. O material seco foi triturado e peneirado em 4 malhas distintas (2mm, 1mm, 120µm, 65µm, respectivamente), sendo posteriormente digerido em uma mistura de 8 mL de ácido nítrico e 2 mL de ácido clorídrico em microondas Anton Paar 3000 Multiwave. A determinação do teor de ferro foi feita em triplicata com auxílio de espectrômetro de massa com fonte de plasma de acoplamento indutivo (ICP-MS), modelo Agilent Technologies 7700 Series, sendo utilizado o material de referência EnviroMAT Sewage Sludge BE-1. Todas as amostras analisadas apresentaram pelo menos 80% de recuperação, conforme recomendação da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA).

A salinidade de cada amostra foi obtida a partir da razão entre medidas de condutividade. A análise física e demais análises químicas foram feitas no Laboratório de Análises Agronômicas e Consultoria para análise - Fullin. A granulometria do sedimento foi determinada pelo método do densímetro (Embrapa, 1997) e a classificação textural seguiu de acordo com a Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. O pH e o teor de matéria orgânica foram determinados conforme Abreu et al. (2006).

### **Determinação do teor de ferro foliar**

Foram utilizadas 10 folhas coletadas de quatro indivíduos, totalizando 40 folhas por espécie. As folhas foram lavadas em água destilada e depois em água ultrapura, sendo, após esse procedimento, secas em estufa à temperatura de 37,5 °C até atingir peso constante. Em seguida, as folhas foram trituradas com auxílio de grau e pistilo e o material vegetal foi submetido à digestão em microondas (Anton Paar 3000 multiwave) com uma solução de 10 mL de ácido nítrico p.a adicionalmente purificado em aparelho para destilação de ácidos (Subboiling destillation, Berghof Alemanha). Os teores de ferro foram determinados de acordo com o método 200.8 descrito pela USEPA, por meio de ICP-MS, utilizado-se o material de referência Standard Reference Material 1547. Todas as amostras analisadas apresentaram pelo menos 80% de recuperação, conforme recomendação da USEPA.

A fim de calcular o grau de acumulação do ferro no tecido foliar, foram determinados os fatores de concentração (FC) desse elemento em cada espécie (concentração de Fe no tecido foliar/concentração de Fe no sedimento).

### **Detecção histoquímica do ferro em folhas**

Amostras de folhas foram lavadas em água destilada a fim de retirar qualquer depósito particulado sobre a superfície. Secções transversais do terço mediano do material vegetal fresco, obtidas à mão-livre, foram submetidas a uma solução de ferrocianeto de potássio 4% e ácido clorídrico 4%, denominada azul de Prússia (Bancroft et al.,1996). Após 24 horas de reação, os cortes foram lavados e montados em água entre lâmina e lamínula. A reação foi considerada positiva nas regiões que apresentaram coloração azul. Cortes de material sem coloração também foram analisados paralelamente, constituindo o negativo.

## RESULTADOS

### Parâmetros meteorológicos

A quantidade de Partículas Totais em Suspensão (PTS) nos municípios amostrados seguiu a ordem: Cariacica > Vitória > Aracruz > Conceição da Barra. Nos meses de setembro a dezembro de 2009 e em março de 2010, a quantidade de PTS em Cariacica excedeu o limite de Padrão Secundário estabelecido pelo CONAMA 03/1990 ( $60 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ) (Fig. 2). Considerando a precipitação pluviométrica, os meses de janeiro e fevereiro de 2010, os quais antecederam a amostragem, foram considerados secos (Fig. 3).

A direção predominante dos ventos foi Nordeste, com velocidade média de 3,9m/s em Aracruz, 3,5m/s em Conceição da Barra, 2,3 m/s em Vitória e 2m/s em Cariacica. A menor velocidade dos ventos em Cariacica foi um fator adicional à concentração de material particulado na região.

### Análise química do material particulado sedimentado na superfície foliar

Em observações de campo verificou-se que o acúmulo de material particulado sedimentado na superfície foliar foi diferente entre as espécies estudadas, seguindo a ordem *A. schaueriana* > *L. racemosa* > *R. mangle* (Fig. 4).

O tamanho das partículas variou de 8  $\mu\text{m}$  a 130  $\mu\text{m}$ . A análise química das partículas sedimentadas sobre a superfície foliar por meio de EDS evidenciou a predominância dos elementos Si, Al, K, Mg, Fe e, em menores proporções, Ca e Cl, os quais são provenientes de ressuspensão do solo. Também foram encontradas partículas de minério de ferro (Fe e O), de sal (Na e Cl) e partículas orgânicas (C e O). Apesar de não ter sido realizado um estudo quantitativo do material particulado sedimentado, as

análises das amostras das folhas dos indivíduos de Cariacica mostraram expressivo acúmulo de partículas (Fig. 5), sobretudo de minério de ferro. Cargas menores de material sedimentado foram encontradas em amostras foliares de indivíduos localizados em Conceição da Barra e Aracruz, sendo raramente encontradas partículas de ferro (dados não mostrados).

### **Análise da morfoanatomia foliar**

Em todas as áreas de manguezal estudadas os indivíduos não apresentaram danos visuais nas folhas, como clorose ou necrose.

A análise da superfície adaxial das folhas em Microscopia Eletrônica de Varredura evidenciou diferenças entre as três espécies estudadas. *A. schaueriana* apresenta grande quantidade de glândulas e tricomas secretores de sal; *L. racemosa* exibe glândulas de sal esparsas e cera epicuticular e *R. mangle* possui folhas glabras e cera epicuticular em maior abundância (Fig. 6).

A lâmina foliar das três espécies estudadas não mostrou alterações estruturais entre indivíduos de diferentes áreas de amostragem.

### **Teor de ferro foliar**

Foram observados baixos fatores de concentração para as três espécies avaliadas, sendo que *A. schaueriana* e *L. racemosa*, de um modo geral, apresentaram maior concentração de ferro no tecido foliar quando comparadas a *R. mangle*. Com relação às cinco áreas de manguezal selecionadas, todas as espécies exibiram menores teores de ferro foliar em Conceição da Barra, ao passo que os maiores teores desse elemento foram encontrados em Cariacica para *A. schaueriana* e *L. racemosa* e em Aracruz para *R. mangle* (Tabela 1).

### **Detecção histoquímica do ferro**

Secções transversais do limbo de *A. schaueriana* mostraram reação positiva ao teste com azul de Prússia nos indivíduos localizados nos manguezais da Ilha do Lameirão, de Conceição da Barra e de Aracruz, sendo que nesta última área a reação foi mais pronunciada. Na região da nervura central foi observada reação na parede de células do colênquima (Fig. 7A). Na região internervural, os indivíduos de Aracruz mostraram reação na parede de células do parênquima aquífero e lacunoso, incluindo aquelas que circundam a câmara subestomática (Fig. 7D), e em glândulas e tricomas secretores de sal (Fig. 7C-F), enquanto os indivíduos de Conceição da Barra e da Ilha do Lameirão mostraram reação apenas na parede celular do parênquima aquífero (7B).

Em *L. racemosa*, secções transversais da nervura central exibiram reação positiva ao teste em elementos de vaso e em células parenquimáticas do xilema nos indivíduos ocorrentes em todas as áreas de estudo (Fig. 8A-F). A reação ao teste ocorreu em maior intensidade e em mais células xilemáticas em Cariacica (Fig. 8F) e em menor intensidade e em menos células xilemáticas em Conceição da Barra (Fig. 8D). Apenas os indivíduos de Aracruz e Cariacica mostraram reação no parênquima cortical e no floema da nervura central (Fig. 8B e C). Na região internervural, observou-se a presença de ferro em glândulas de sal (Fig. 8I) para os indivíduos amostrados em todas as áreas de manguezal. Os indivíduos de Aracruz diferiram das demais áreas, pois também mostraram reação em células do parênquima aquífero e clorofiliano (Fig. 8H) e no conteúdo de células epidérmicas (Fig. 8B).

Em *R. mangle*, foi observada reação ao teste histoquímico na parede de células do floema na região da nervura central dos indivíduos localizados em Aracruz e Conceição da Barra (Fig. 9A). Na área internervural, houve reação positiva na parede das células do parênquima aquífero (Fig. 9B e F), do parênquima lacunoso (Fig. 9B e



G), incluindo aquelas que circundam a câmara subestomática (Fig. 9E), e em verrugas suberosas (Fig. 9H e I) nos indivíduos de todas as áreas selecionadas. Somente os indivíduos localizados em Conceição da Barra mostraram acúmulo de ferro no conteúdo de células mucilaginosas (Fig. 9C) e de células do parênquima lacunoso (Fig. 9D).

### **Análise físico-química do sedimento**

As frações inorgânicas do sedimento apresentaram ampla variação entre as áreas de manguezal estudadas, havendo frações mais grosseiras em Conceição da Barra e mais finas em Aracruz. A salinidade variou entre 33,1 e 59, sendo menor na Ilha do Lameirão e maior em Conceição da Barra. O pH variou de ácido (4,2) na Ilha do Lameirão a básico (8,1) em Conceição da Barra e o teor de matéria orgânica foi menor em Conceição da Barra (0,7 dag/Kg) e maior na Ilha do Lameirão (16,7 dag/Kg) (Tabela 2).

As concentrações de ferro no sedimento foram muito similares entre as áreas estudadas e não apresentaram diferenças significativas (Tabela 1).

## **DISCUSSÃO**

### **Material particulado**

A deposição de material particulado na superfície foliar dos indivíduos entre as áreas de estudo confirmam os dados monitorados para PTS, onde foi possível observar que a maior deposição de particulado nas plantas ocorre em áreas mais sujeitas a poluição por material particulado. Tal fato também explica a menor deposição de partículas sobre as folhas dos indivíduos localizados em Conceição da Barra.

Entre as espécies estudadas, a deposição diferenciada de material particulado parece estar relacionada a diferenças morfológicas da superfície foliar. Em *R. mangle*, as folhas glabras e a cutícula cerosa devem ser responsáveis pela menor deposição de material particulado, ao passo que a grande quantidade de glândulas de sal em *A. schaueriana*, as quais liberam uma solução salina na superfície foliar, devem acarretar na maior aderência das partículas. *L. racemosa*, espécie que possui glândulas de sal esparsas, apresentou um acúmulo de material particulado intermediário quando comparado às duas espécies. Estes resultados estão de acordo com outros trabalhos que também atribuíram a aderência das partículas às características da epiderme e da cutícula (Kuki et al., 2008; Naidoo e Chirkoot, 2004; Naidoo e Naidoo, 2005; Prusty et al., 2005; Silva et al., 2006).

Dentre os danos mais comuns observados em folhas de plantas sensíveis à exposição de material particulado incluem clorose e necrose (Ali, 1993; Lopes et al., 2000; Silva et al., 2006). Essas lesões não foram observadas em nenhuma das espécies estudadas, mesmo nos indivíduos localizados em Cariacica, os quais apresentavam folhas densamente cobertas pelo particulado. Em observações de campo, foi constatado que as partículas permanecem pouco tempo sobre a superfície foliar, sendo facilmente lavado por pequenos eventos de precipitação pluviométrica, o que pode estar contribuindo para a ausência de sintomas, pois o efeito deste poluente também depende do seu tempo de permanência sobre a folha (Grantz et al., 2003).

Alterações anatômicas foliares, como a presença de células colapsadas ou em divisões recentes, podem ocorrer (Dixit, 1988), dependendo da característica química do material particulado. No presente estudo, também não foram verificadas quaisquer variações anatômicas nos indivíduos mais expostos ao ferro particulado.

Será importante avaliar em trabalhos futuros, se a transpiração e as trocas gasosas nessas espécies estão sendo influenciadas, visto que as partículas possuem diâmetro pequeno o suficiente para obstruir o poro estomático, como observado em *L. racemosa* (Fig. 3E).

### **Teor de ferro no sedimento, na água intersticial e nas folhas**

As concentrações de ferro no sedimento apresentaram semelhança entre as áreas estudadas e não mostraram correspondência com os demais parâmetros físico-químicos avaliados, assim como observado por Aragon et al. (1986). Em geral, o teor de matéria orgânica é o principal parâmetro de acúmulo de alguns metais pesados nos sedimentos, devido à sua alta capacidade de adsorção e à atividade de microorganismos em alterar o ambiente para um estado reduzido (Lacerda e Abrão, 1984; Zhou et al., 2010). Entretanto, o Fe mostra-se menos sensível a essas condições e, ao contrário dos demais metais, não apresenta boa correlação com o teor de matéria orgânica (Aragon et al., 1986).

A concentração de ferro na água intersticial foi muito baixa quando comparada à concentração desse elemento no sedimento, indicando que a maior parte do ferro encontra-se na fração fortemente ligada ao sedimento, como verificado por Silva et al. (1990). Além disso, a redução do sulfato constitui um mecanismo importante no controle da precipitação de íons ferrosos, sobretudo pirita, estabelecendo um processo regulador da concentração de ferro na água intersticial (Aragon et al., 1996; Sherman et al., 1998). Comparando-se as áreas de manguezal avaliadas neste estudo, Conceição da Barra apresenta maior concentração de ferro na água intersticial, fato que pode estar relacionado à granulometria arenosa de sedimento, o qual contribui para a disponibilidade desse metal (Machado et al., 2005). Por outro lado, os sedimentos de

Cariacica, Canal da Passagem e Lameirão mostraram as concentrações mais baixas desse elemento na água intersticial, indicando que uma parcela ainda menor encontrava-se biodisponível. Em solos de mangue onde há despejo de esgoto, grande parte dos metais adicionados está adsorvida a sítios de troca catiônica ou precipitados como sulfeto insolúvel (Tam & Wong, 1993, 1995), o que explica a baixa biodisponibilidade de ferro nessas áreas.

A concentração de ferro no tecido foliar de *A. schaueriana*, *L. racemosa* e *R. mangle* não refletiu a concentração desse elemento no sedimento e na água intersticial das cinco áreas de manguezal avaliadas. Em sedimentos mais arenosos, como em Conceição da Barra, grande parte dos metais, em particular o Fe, encontram-se em concentrações potencialmente biodisponíveis (Machado et al., 2005). Contudo, apesar da maior concentração desse elemento na água intersticial, em condições mais óxicas do sedimento, Fe e Mn se transformam em óxidos insolúveis (Shaw et al., 1990) o que favorece o baixo fator de acumulação encontrado nas folhas das espécies amostradas nessa área. Além disso, a absorção de ferro é extremamente baixa em pH alcalino (Epstein e Bloom, 2006).

Em todas as áreas de manguezal estudadas *A. schaueriana*, *L. racemosa* e *R. mangle* apresentaram baixos fatores de concentração para o ferro. Esse elemento foi acumulado nas folhas a níveis entre 0,001 a 0,016 vezes a sua concentração no sedimento. Vários autores têm relatado baixos fatores de concentração para esse elemento no tecido foliar em espécies de mangue (Bernini et al., 2006; Saifullah et al., 2004; Sarangi et al., 2002; Silva et al., 1990). Além do ambiente redutor e alto teor de matéria orgânica favorecer a baixa biodisponibilidade desse elemento, uma causa adicional aos baixos fatores de concentração encontrados é o fato de que a maior parte

do ferro permanece retida na raiz (Machado et al., 2005; Silva et al., 1990), suprimindo em parte sua translocação para as folhas.

As maiores concentrações de ferro foliar encontradas nas espécies ocorrentes em Cariacica e Aracruz, provavelmente devem-se às condições mais favoráveis de pH para absorção de nutrientes, que se encontram na faixa entre 5,5 e 7,0 (Epstein e Bloom, 2006). Para *A. schaueriana* e *L. racemosa* os maiores teores de ferro foram encontrados em folhas de indivíduos localizados no manguezal de Cariacica. O teste histoquímico com azul de Prússia confirmou esse resultado para *L. racemosa*, visto que a reação ocorreu em maior intensidade e em mais células do xilema. Contudo, em folhas de *A. schaueriana*, a reação ao teste não corrobora os maiores teores de ferro encontrados. Além disso, consideramos possível a absorção foliar desse elemento, visto que as folhas de *A. schaueriana* e *L. racemosa* retêm maior quantidade de ferro particulado na superfície foliar quando comparado à *R. mangle*. O óxido de ferro apresenta baixa solubilidade (Fan et al., 2006), mas, uma vez solúvel, pode ser absorvido via foliar a partir de  $Fe^{3+}$  (Epstein e Bloom, 2006). Silva et al. (2006) atribuíram o maior teor de ferro nas folhas de três espécies de Restinga à absorção foliar desse elemento a partir do ferro particulado sedimentado.

Considerando cada área de estudo, as espécies mostraram diferenças quanto ao teor de ferro nas folhas, sendo que, em geral, *A. schaueriana* e *L. racemosa* apresentaram concentrações maiores desse elemento quando comparadas à *R. mangle*. Espécies sal-secretoras, como *A. schaueriana* e *L. racemosa*, apresentam concentrações maiores de sal na seiva xilemática em relação às espécies que não possuem glândulas de sal (Sholander et al., 1962), devido à ultrafiltração de sais presente nas raízes (Werner & Stelzer, 1990). Esse mecanismo também parece ser o responsável pela maior concentração de metais nos tecidos de espécies secretoras de sal, conforme encontrado

em outros trabalhos (Bernini et al., 2006; Cuzzuol & Campos, 2001; Lacerda et al., 1985; Sarangi et al., 2002). Além disso, os efeitos da placa de ferro, tanto pela acumulação de metal sobre a superfície radicular como pela exclusão a partir da raiz, são diferentes entre as espécies de mangue que co-existem nas mesmas condições ambientais, como observado por Machado et al. (2005) para *A. schaueriana*, *L. racemosa* e *R. mangle*.

### **Deteção histoquímica do ferro**

O ferro foi encontrado principalmente em paredes celulares, mas também no conteúdo de células da epiderme, do mesofilo e do xilema, sugerindo que o transporte desse metal a curta distância ocorreu tanto via apoplástica como simplástica, assim como relatado por Bauer e Hell (2006).

A detecção de ferro em glândulas de sal de *L. racemosa* foi observada em todas as áreas de coleta, enquanto que, para *A. schaueriana*, apenas foi visualizada em Aracruz. A presença de ferro no interior de glândulas de sal em indivíduos pouco expostos ao ferro particulado sugere a secreção desse metal por essas estruturas, como constatado por Arrivabene e colaboradores (dados não publicados). Em *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh, a eliminação dos metais Zn e Cu pelas glândulas de sal foi comprovada por Macfarlane & Burchett (1999, 2000).

Vale ressaltar ainda que células que circundam a câmara subestomática de indivíduos sob pouca influência de ferro particulado também apresentaram reação positiva ao teste histoquímico, sugerindo uma possível eliminação desse metal por meio da corrente transpiratória, assim como relatado por Burke et al. (2000).

Embora Silva et al. (2006) associem que o ferro detectado histoquimicamente em folhas de indivíduos expostos ao ferro particulado seja proveniente da absorção

foliar, os resultados obtidos no presente trabalho não corroboram esses dados, visto que as espécies localizadas nas áreas sob pouca influência deste poluente (Aracruz e Conceição da Barra), em geral, mostraram maior reação ao teste.

O emprego do teste histoquímico com azul de Prússia não mostrou ser um método adequado para indicar o potencial de bioacumulação de ferro em folhas de *A. schaueriana*, *L. racemosa* e *R. mangle*.

## **CONCLUSÃO**

A partir dos parâmetros analisados, *A. schaueriana*, *L. racemosa* e *R. mangle* mostraram-se bastante tolerantes ao ferro particulado, não sendo observados danos morfológicos ou estruturais nas folhas dos indivíduos mais expostos a esse poluente.

O teor de ferro no sedimento não variou significativamente entre as cinco áreas de manguezal.

Para *A. schaueriana* e *L. racemosa*, a maior concentração de ferro foliar ocorreu em indivíduos sob maior influência de ferro particulado sugerindo a absorção foliar desse elemento.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Fundo de Apoio à Ciência e Tecnologia do Município de Vitória (FACITEC) pela bolsa de mestrado fornecida à primeira autora (proc. 3310/2009). Ao Instituto Superior de Investigação, Desenvolvimento e Serviços em Alimentos (ISIDSA) da Universidade Nacional de Córdoba (UNC) na Argentina pela análise de ferro no sedimento, na água intersticial e nas folhas. Ao grupo de poluição atmosférica e ao Departamento de Mecânica da UFES pela análise química do material particulado.

## REFERÊNCIAS

- Abreu, M.F., Andrade, J.C., Falcão, A.A., 2006. Protocolos de análises químicas, In: Andrade, J.C., Abreu, M.F. (Org.), Análise química de resíduos sólidos para monitoramento e estudos agroambientais. IAC, Campinas, pp.121-158.
- Ali, E.A., 1993. Damage to plants due to industrial pollution and their use as bioindicators in Egypt. *Environmental Pollution* 81, 251-255.
- Aragon, G.T., Pires, V.S., Lacerda, L.D., Patchineelan, S.R., 1986. Distribuição espacial de nutrientes e metais pesados em sedimentos e águas superficiais em um ecossistema manguezal. *Acta Limnol. Brasil.* 1, 365-385.
- Aragon, G.T.; Ovalle, A.R.C.; Carmouze, J.P., 1996. Geoquímica do ferro e do enxofre nas águas intersticiais de um manguezal da Baía de Sepetiba, R. J. *Geochim. Brasil.* 10, 241-247.
- Bancroft, J.D., Stevens, A., Turner, D.R., 1996. *Theory and practice of histological techniques*, Churchill Livingstone, New York.
- Bauer, P., Hell, R., 2006. Translocation of Iron in Plant Tissues, In: Barton, L.L., Abadia, J. (Eds.), *Iron Nutrition in Plants and Rhizospheric Microorganisms*. Springer, Dordrecht, pp. 279-288.
- Bernini, E., Silva, M.A.B., Carmo, T.M.S., Cuzzuol, G.R.F., 2006. Composição química do sedimento e de folhas das espécies do manguezal do estuário do Rio São Mateus, Espírito Santo, Brasil. *Rev. Brasil. Bot.* 29, 689-699.
- Burke, D.J., Weis, J.S., Weis, P., 2000. Release of Metals by the Leaves of the Salt Marsh Grasses *Spartina alterniflora* and *Phragmites australis*. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 51, 153–159.
- Cepemar, 2004. Plano de manejo do Parque Estadual de Itaúnas. Relatório técnico (Encarte 04: meio biótico), Cepemar/Petrobras, Vitória.



- Connolly, E.L., Guerinot, M. L., 2002. Iron stress in plants. *Genome Biology* 3, 1024.1–1024.4.
- Cuzzuol, G. R. F., Campos, A., 2001. Aspectos nutricionais na vegetação de manguezal do estuário do Rio Mucuri, Bahia, Brasil. *Rev. Brasil. Bot.* 24, 227-234.
- Defew, L.H., Mair, J.M., Guzman, H.M., 2005. An assessment of metal contamination in mangrove sediments and leaves from Punta Mala Bay, Pacific Panama. *Marine Pollution Bulletin* 50, 547–552.
- Dixit, A.B., 1988. Effects of Particulate Pollutants on Plants at Ultrastructural and Cellular Levels. *Annals of Botany* 62, 643-651.
- Embrapa, 1997. Manual de métodos de análise de solo. Embrapa- Centro Nacional de Pesquisa de Solo, Rio de Janeiro.
- Epstein, E., Bloom, A., 2006. Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas, 2 ed., Editora Planta, Londrina.
- Fan, S-M., Moxim, W.J., Levy, H., 2006. Aeolian input of bioavailable iron to the ocean. *Geophysical Research Letters* 33, L07602.
- Farmer, A.M, 1993. The effects of dust on vegetation – a review. *Environmental Pollution* 79, 63-75.
- Grantz, D.A., Garner, J.H.B., Johnson, D.W., 2003. Ecological effects of particulate matter *Environment International* 29, 213– 239.
- Hirano, T., Kiyota, M. Aiga, I., 1995. Physical effects of dust on leaf physiology of cucumber and kidney bean plants. *Environmental Pollution* 89, 255-261.
- Instituto Brasileiro de Executivos de Finanças – IBEF.  
<http://ibefes.ning.com/page/ibefes-faz-visita-tecnica-a>. Acesso em: 13/02/2011.

Jesus, H.C., Costa, E.A., Mendonça, A.S.F., Zandonade, E., 2004. Distribuição de metais pesados em sedimentos do sistema estuarino da Ilha de Vitória-ES. *Quim. Nova* 27, 378-386.

Jesus, H.C., Santana, E.J., Belo, M.J., Silva, L.B., Ceotto, C.S., Castro Neves, D.M., Castro, L.B., 2009. Avaliação da poluição ambiental dos rios Piraquê-açu e Piraquê-mirim (Santa Cruz – ES) através da análise de águas, biomonitorios e sedimentos. Relatório Técnico- Projeto Aracruz Celulose, Processo UFES nº 034373/2007-80.

Kampfenkel, K., Montagu, M.V., Inzé, D., 1995. Effects of Iron Excess on *Nicotiana glauca* Plants: Implications to Oxidative Stress. *Plant Physiol.* 107, 725-735.

Köppen, W., 1948. *Climatologia: con un studio de los climas de la tierra*, Fondo de Cultura Económica, México.

Kuki, K.N., Oliva, M.A., Pereira, E.G., 2008. Iron Ore Industry Emissions as a Potential Ecological Risk Factor for Tropical Coastal Vegetation. *Environmental Management* 42, 111–121.

Lacerda, L. D., Rezende, C.E., José, D.V., Wasserman, J.C., Francisco, M.C., 1985. Mineral concentrations in leaves of mangrove trees. *Biotropica* 17, 21-27.

Lacerda, L.D., Abrão, J. J., 1984. Heavy metal accumulation by mangrove and saltmarsh intertidal sediments. *Revta Brasil. Bot.* 7, 49-52.

Lopes, S.A., Oliva, M.A., Martinez, C.A., 2000. Impacto das emissões de dióxido de enxofre e deposição de material particulado de ferro em espécies vegetais da restinga: avaliação ecofisiológica, In: Espíndola, E., Paschoal, C., Rocha, O., Bohrer, M., Oliveira Neto, A. (Eds.), *Ecotoxicologia. Rima Artes e Textos*, São Carlos, pp. 53-71.

MacFarlane, G.R., Burchett, M.D., 1999. Zinc distribution and excretion in the leaves of the grey mangrove, *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. *Environ. Exp. Bot.* 41, 167–175.

- MacFarlane, G.R., Burchett, M.D., 2000. Cellular distribution of copper, lead and zinc in the grey mangrove, *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh Aquat. Bot. 68, 45–59.
- MacFarlane, G.R., Burchett, M.D., 2002. Toxicity, growth and accumulation relationships of copper, lead and zinc in the grey mangrove *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. Marine Environmental Research 54, 65–84.
- MacFarlane, G.R., Pulkownik, A., Burchett, M.D., 2003. Accumulation and distribution of heavy metals in the grey mangrove, *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh.: biological indication potential. Environmental Pollution 123, 139–151.
- Machado, W., Gueiros, B.B., Lisboa-Filho, S.D., Lacerda, L.D., 2005. Trace metals in mangrove seedlings: role of iron plaque formation. Wetlands Ecology and Management 13, 199–206.
- Machado, W., Silva-Filho, E.V., Oliveira, R.R., Lacerda, L.D., 2002. Trace metal retention in mangrove ecosystems in Guanabara Bay, SE Brazil. Marine Pollution Bulletin 44, 1277–1280.
- Marschner, H., 1999. Mineral Nutrition of Higher plants. Academic Press, New York.
- Naidoo, G., Chirkoot, D., 2004. The effects of coal dust on photosynthetic performance of the mangrove, *Avicennia marina* in Richards Bay, South Africa. Environmental Pollution 127, 359–366.
- Naidoo, G., Naidoo, Y., 2005. Coal dust pollution effects on wetland tree species in Richards Bay, South Africa. Wetlands Ecology and Management 13, 509–515.
- Paling, E.I., Humphries, G., McCardle, I., Thomson, G., 2001. The effects of iron ore dust on mangroves in Western Australia: Lack of evidence for stomatal damage. Wetlands Ecology and Management 9, 363–370.

- Peters, E.C., Gassman, N.J., Firman, J.C., Richmond, R.H., Power, E.A., 1997. Ecotoxicology of tropical marine ecosystems. *Environmental Toxicology and Chemistry* 16, 12–40.
- Prusty, B.A.K., Mishra, P.C., Azeez, P.A., 2005. Dust accumulation and leaf pigment content in vegetation near the national highway at Sambalpur, Orissa, India. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 60, 228–235.
- Saifullah, S.M., Ismail, S., Khan, S.H., Saleem, M., 2004. Land Use: Iron Pollution in Mangrove Habitat of Karachi, Indus Delta. *Earth Interactions* 8, 1-9.
- Salgado, P.E.T., 2003. Informações gerais e ecotoxicológicas de material particulado, Série Cadernos de Referência Ambiental v. 14, Salvador.
- Sarangi, R.K., Kathiresan, K., Subramanian, A.N., 2002. Metal concentrations in five mangrove species of the Bhitarkanika, Orissa, east coast of india. *Indian Journal of marine sciences* 31, 251-253.
- Scholander, P.F., Hammel, H.T., Hemmingsen, E.; Garey, W., 1962. Salt Balance in Mangroves. *Plant Physiol.* 37, 722–729.
- Shaw, T.J., Gieskes, J.M., Jahnke, R.A., 1990. Early diagenesis in differing depositional environments: the response of transition metals in pore water. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 54, 1233–1246.
- Sherman, R.E., Fahey, T.J., Howarth, R.W., 1998. Soil-plant interactions in a neotropical mangrove forest: iron, phosphorus and sulfur dynamics. *Oecologia* 115, 553-563.
- Silva Filho, E.V., Paiva, R.P., Wasserman, J.C., Lacerda, L.D., 1998. Geochemical Characterization of Rain Water Particulate Material on a Coastal Sub-Tropical Region in SE – Brazil. *J. Braz. Chem. Soc.* 9, 482-486.

- Silva, C.A.R., Lacerda, L.D., Rezende, C.E., 1990. Metals reservoir in a red mangrove forest. *Biotropica* 22 (4): 339-345.
- Silva, L.C., Oliva, M.A., Azevedo, A.A., Araújo, J.M., 2006. Responses of Restinga plant species to pollution from an iron pelletization factory. *Water, Air, and Soil Pollution* 175, 241–256.
- Tam, N.F.Y., Wong, Y.S., 1993. Retention of nutrients and heavy metals in mangrove sediments receiving wastewater of different strengths. *Environmental Technology* 14, 719-729.
- Tam, N.F.Y., Wong, Y.S., 1995. Retention and distribution of heavy metals in mangrove soils receiving wastewater. *Environmental Pollution* 94, 283-291.
- Tam, N.F.Y., Wong Y-S., 1997. Accumulation and distribution of heavy metals in a simulated mangrove system treated with sewage. *Hydrobiologia* 352, 67–75.
- Tam, N.F.Y., Wong, Y.S., 1998. Variations of soil nutrient and organic matter content in a subtropical mangrove ecosystem. *Water, Air, and Soil Pollution* 103, 245–261.
- Tam, N.F.Y., Wong, W.S., 2000. Spatial variation of heavy metals in surface sediments of Hong Kong mangrove swamps. *Environmental Pollution* 110, 195–205.
- Tam, N.F.Y., Yao, M.W.Y., 1998. Normalisation and heavy metal contamination in mangrove sediments. *The Science of The Total Environment* 216, 33-39.
- Vannucci, M., 2001. What is so special about mangroves?. *Brazilian Journal of Biology* 61, 599-603.
- Werner, A., Stelzer, R., 1990. Physiological responses of the mangrove *Rhizophora mangle* grown in the absence and presence of NaCl. *Plant, Cell Environ.* 13, 243-255.
- Zhou, Y-W., Zhao, B., Peng, Y-S., Chen, G-Z., 2010. Influence of mangrove reforestation on heavy metal accumulation and speciation in intertidal sediments. *Mar. Pollut. Bull.* 60, 1319–1324.

**Tabela 1**

**Tabela 2**

## LEGENDA DAS FIGURAS

Figura 1. Mapa do Brasil e do Espírito Santo com a localização das áreas de amostragem deste estudo (1 = Conceição da Barra; 2 = Aracruz; 3 = Cariacica; 4 = Ilha do Lameirão; 5 = Canal da Passagem; 6 = Porto de Tubarão; 7 = Ferrovia de transporte de minério de ferro).

Figura 2. Partículas totais em suspensão ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ) em cada município amostrado. Padrão secundário de acordo com a Resolução CONAMA (03/1990).

Figura 3. Precipitação pluviométrica total (mm) em cada município amostrado.

Figura 4. Aspecto da deposição de material particulado em folhas de *A. schaueriana* (A), *L. racemosa* (B) e *R. mangle* (C) coletadas no manguezal de Cariacica.

Figura 5. Aspecto da deposição de material particulado em Microscopia Eletrônica de Varredura em *A. schaueriana* (A-C), *L. racemosa* (D-F) e *R. mangle* (G-H), mostrando maior deposição nos indivíduos localizados em Cariacica (A, D e G), deposição intermediária naqueles localizados na Ilha do Lameirão ou Canal da Passagem (B, E e H) e menor deposição em Aracruz ou Conceição da Barra (C, F e I). Barras = 50  $\mu\text{m}$  (A) e 20  $\mu\text{m}$  (B-I).

Figura 6. Aspecto da superfície adaxial da lâmina foliar das espécies estudadas. A-B. *A. schaueriana*. A. Aspecto geral, mostrando tricomas secretores de sal. B. Detalhe da glândula de sal. C-D. *L. racemosa*. C. Aspecto geral, mostrando cera epicuticular. D. Detalhe da glândula de sal. E. *R. mangle*, mostrando cera epicuticular em abundância. Barras = 20  $\mu\text{m}$  (A, B e D), 10  $\mu\text{m}$  (C e E).

Figura 7. Detecção histoquímica de ferro em secções transversais do limbo de *A. schaueriana* submetidas ao teste com azul de Prússia. A coloração azul indica reação positiva ao teste. A. Região da nervura central de indivíduos de Aracruz. B-F. Região



internervural. B. indivíduos do Canal da Passagem. C-F. Indivíduos de Aracruz. Notar presença de ferro no interior da glândula de sal (E) e do tricoma glandular (F). As setas indicam os estômatos. (Co = colênquima; Ep = epiderme; Gs = glândula de sal; Pa = parênquima aquífero; Pl = parênquima lacunoso). Barras = 100  $\mu\text{m}$  (A), 50  $\mu\text{m}$  (B e C) e 10  $\mu\text{m}$  (D, E e F).

Figura 8. Detecção histoquímica de ferro em secções transversais do limbo de *L. racemosa* submetidas ao teste com azul de Prússia. A coloração azul indica reação positiva ao teste. A-F. Região da nervura central. A e D. Indivíduos de Conceição da Barra. B e E. Aracruz. C e F. Cariacica. G-I. Região internervural de indivíduos de Aracruz. I. Detalhe de uma glândula de sal mostrando detecção de ferro na secreção. (Ep = epiderme; Fl = floema; Pa = parênquima aquífero; Pc = parênquima cortical; Pcl = parênquima clorofiliano; Xi = xilema). Barras = 100  $\mu\text{m}$  (A, B e C), 50  $\mu\text{m}$  (G e H), 20  $\mu\text{m}$  (I) e 10  $\mu\text{m}$  (D, E e F).

Figura 9. Detecção histoquímica de ferro em secções transversais do limbo de *R. mangle* submetidas ao teste com azul de Prússia. A coloração azul indica reação positiva ao teste. A. Região da nervura central de indivíduos de Aracruz. B-I. Região internervural. B. Indivíduos da Ilha do Lameirão. C e D. Indivíduos de Conceição da Barra. E-I. Indivíduos de Aracruz. Notar presença de ferro no interior das verrugas suberosas (H e I). A seta indica o estômato. (Cm = células mucilaginosas; Fl = floema; Pa = parênquima aquífero; Pl = parênquima lacunoso). Barras = 50  $\mu\text{m}$  (B, C e D), 20  $\mu\text{m}$  (G) e 10  $\mu\text{m}$  (A, E, F, H e I).

## FIGURAS

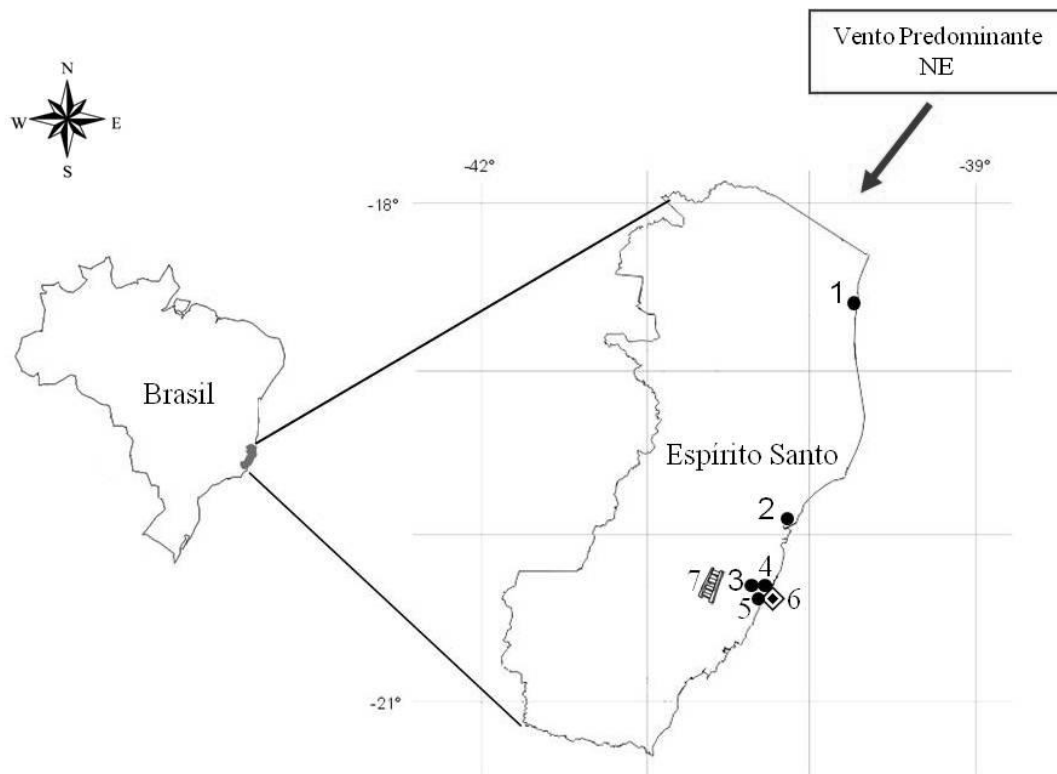


Figura 1

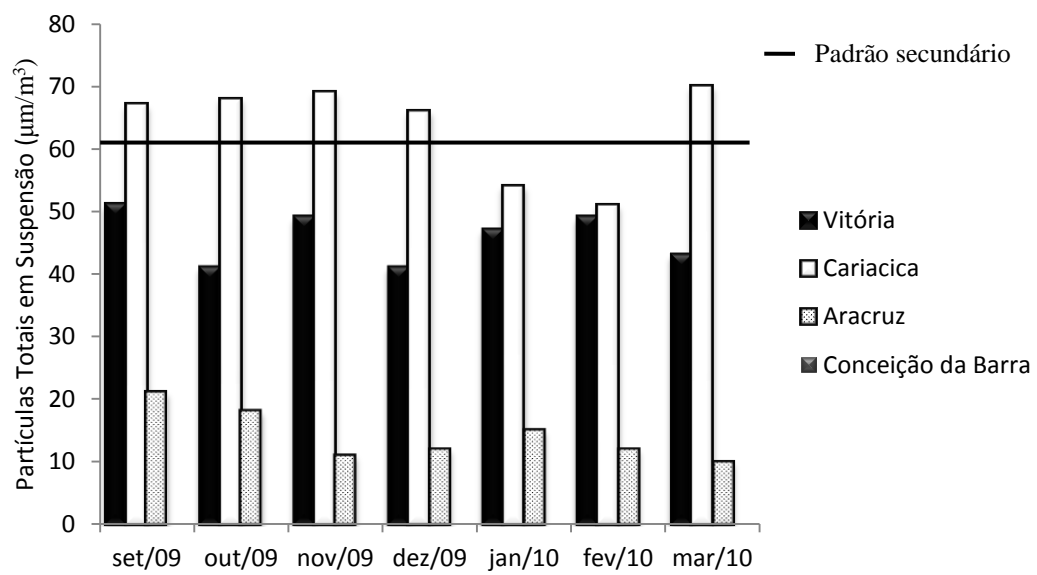


Figura 2

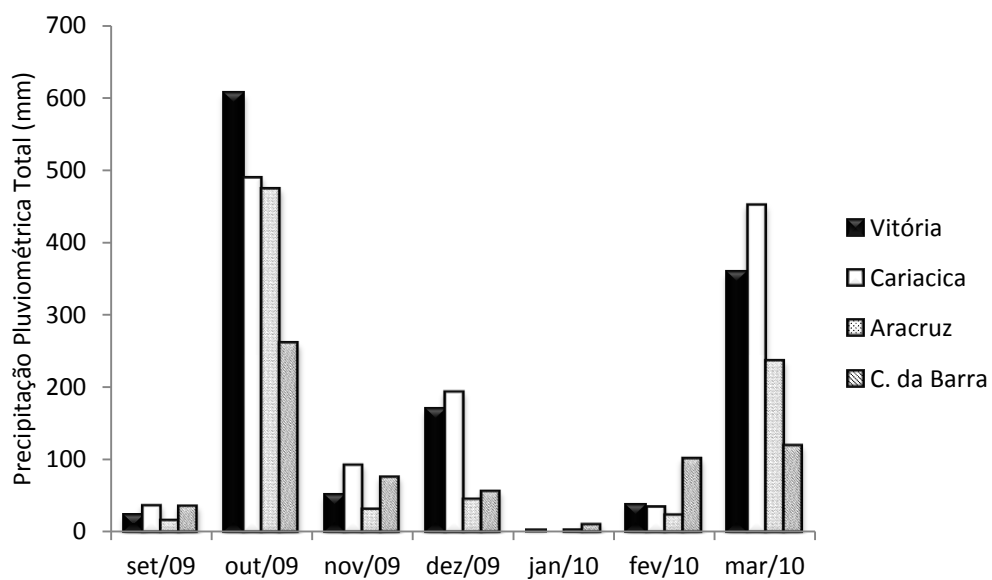


Figura 3

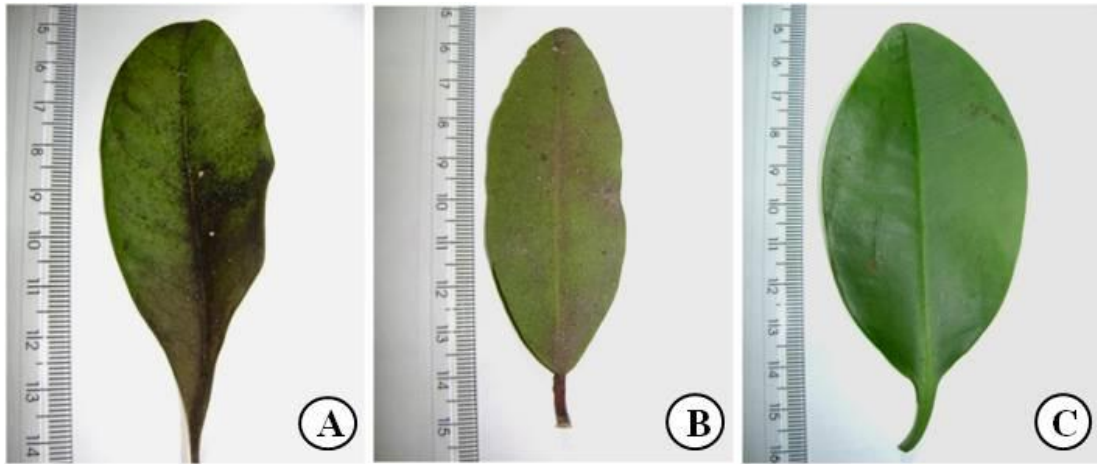


Figura 4

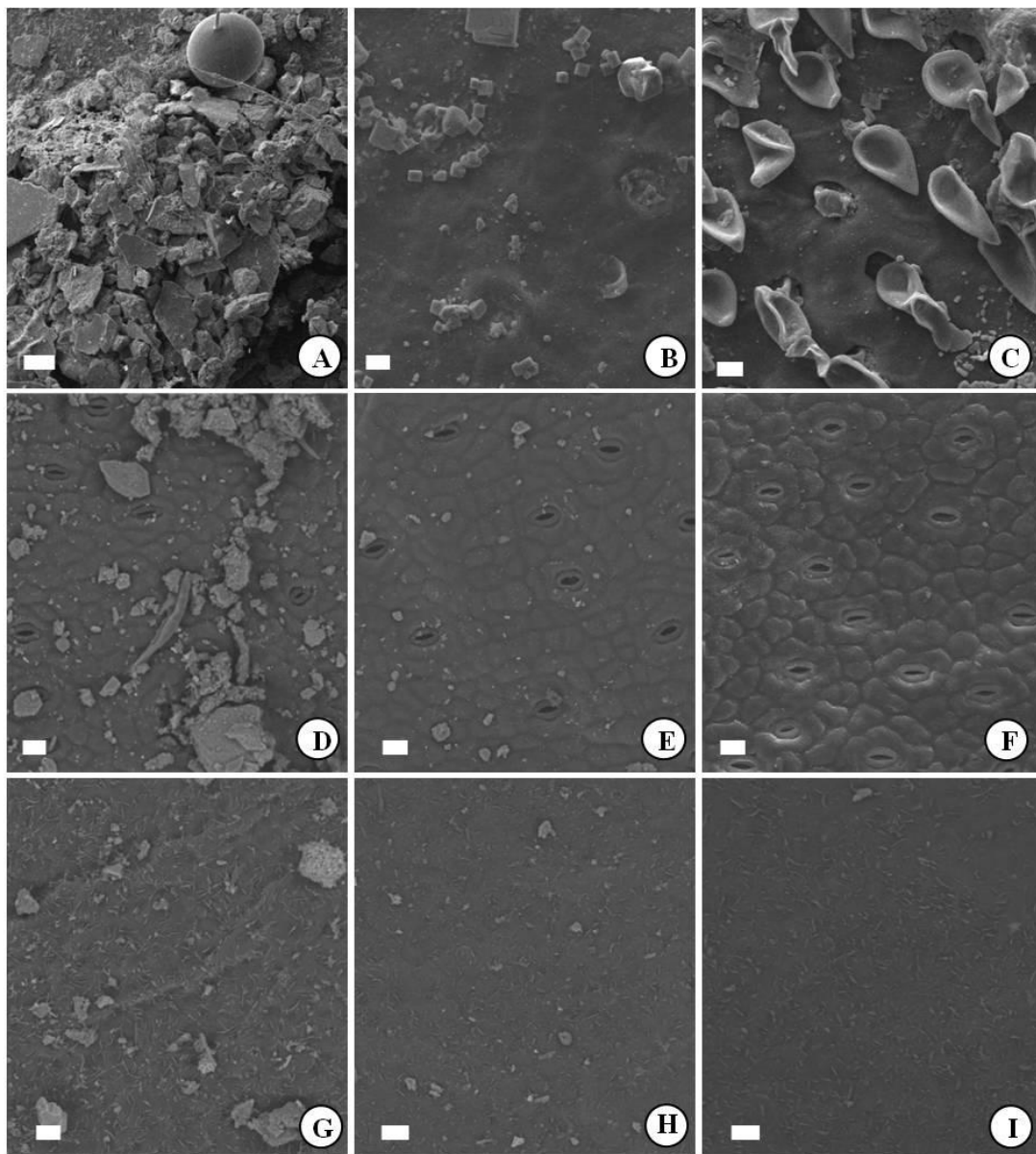


Figura 5

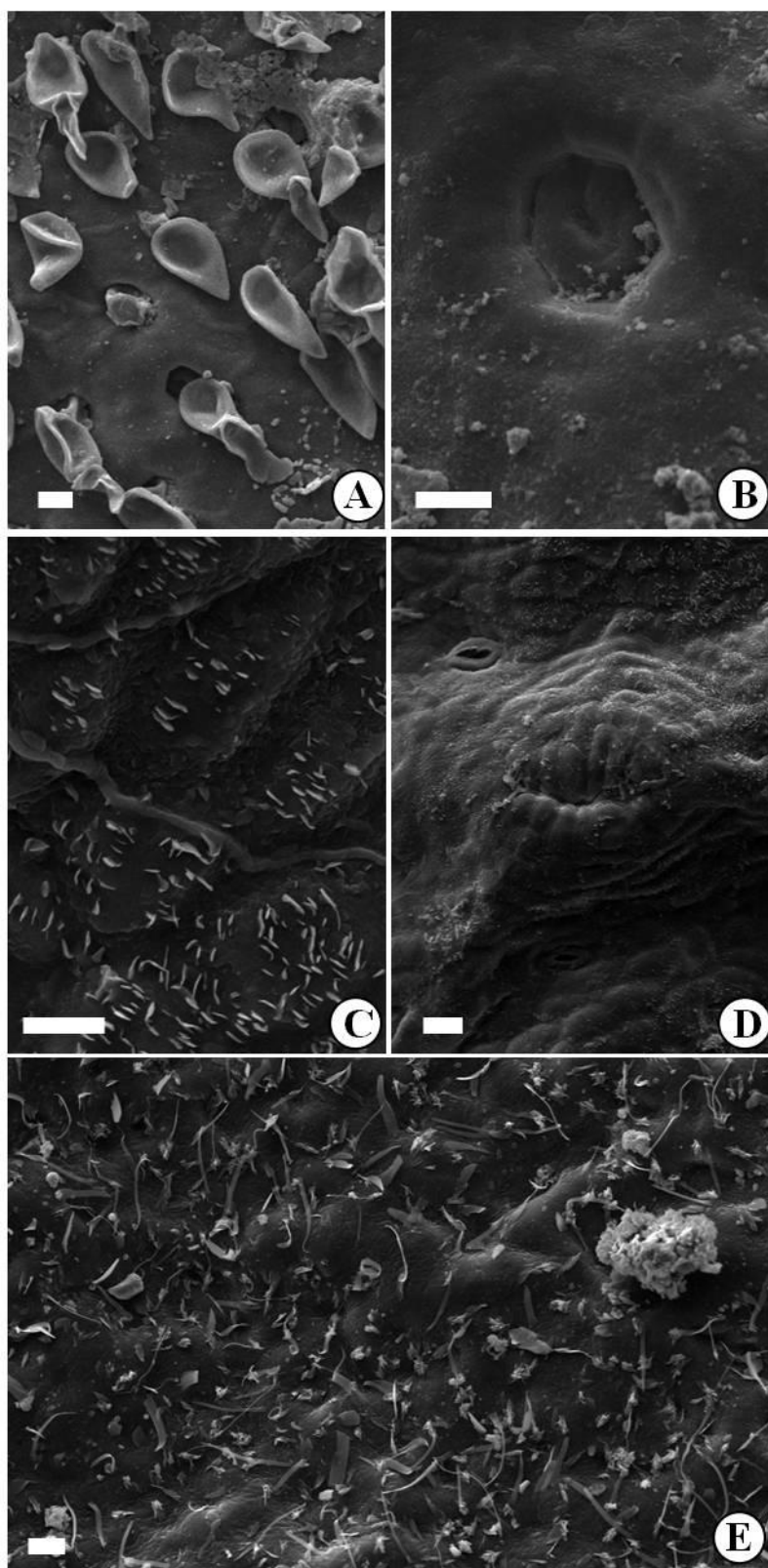


Figura 6

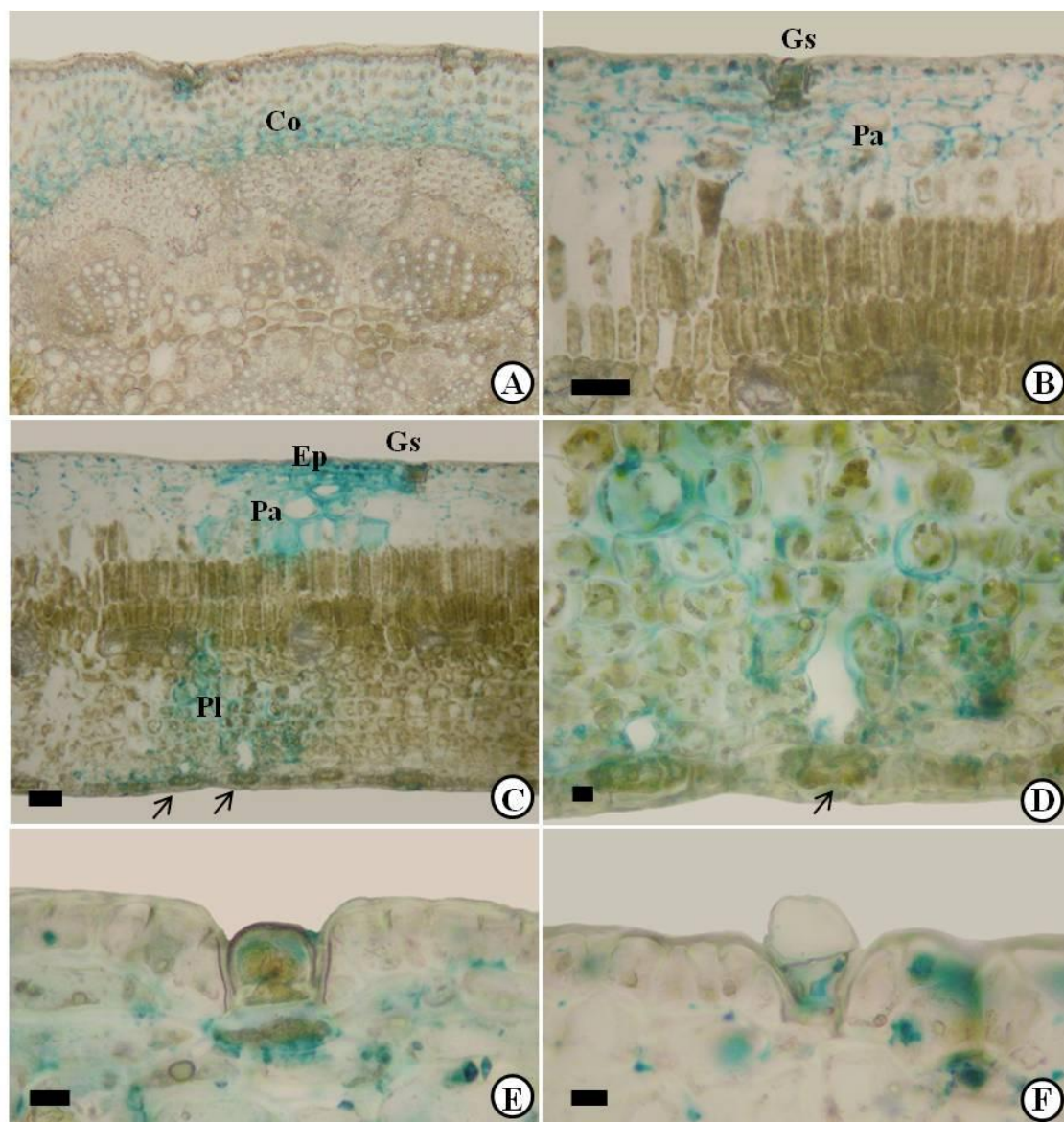


Figura 7

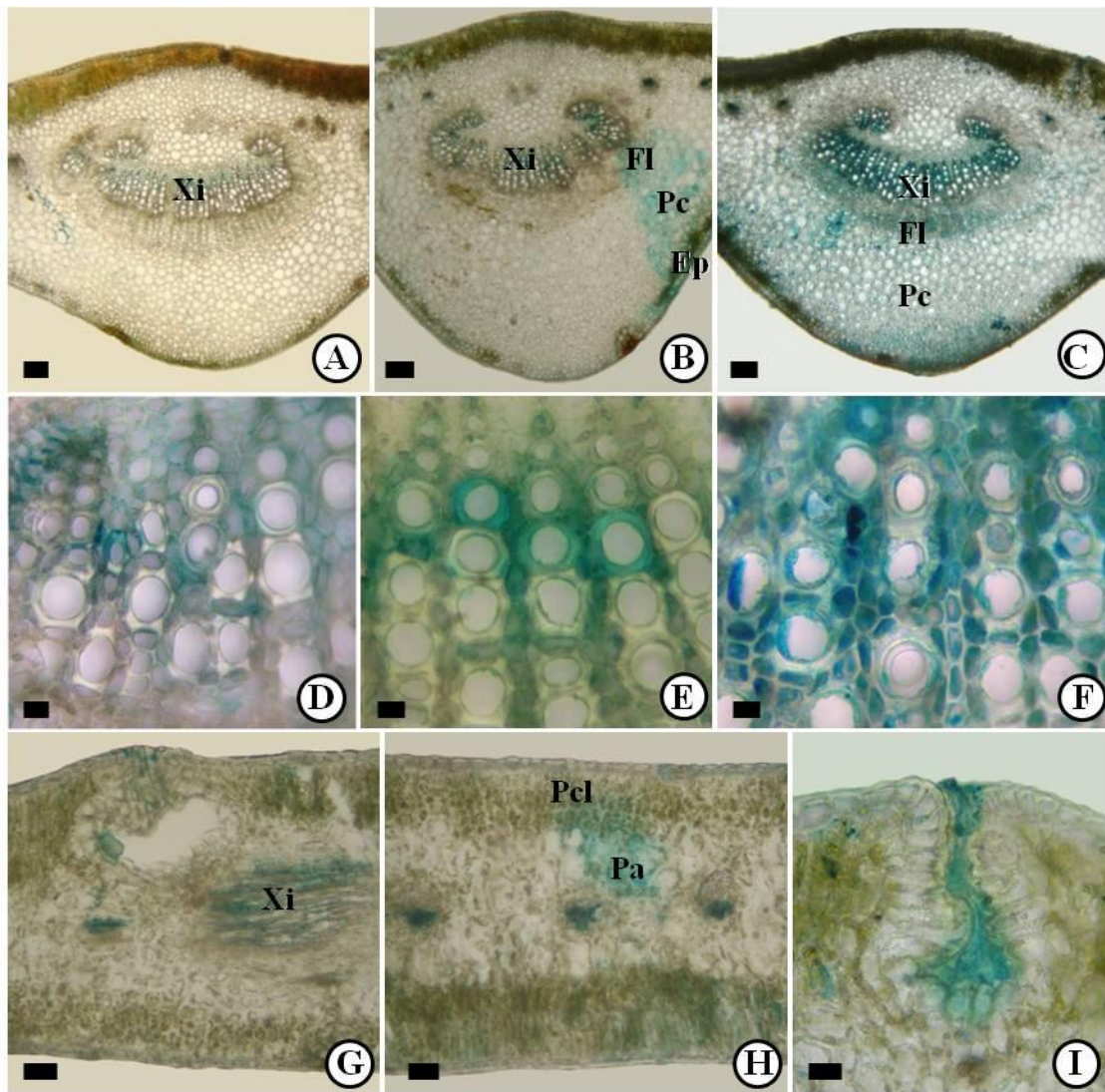


Figura 8



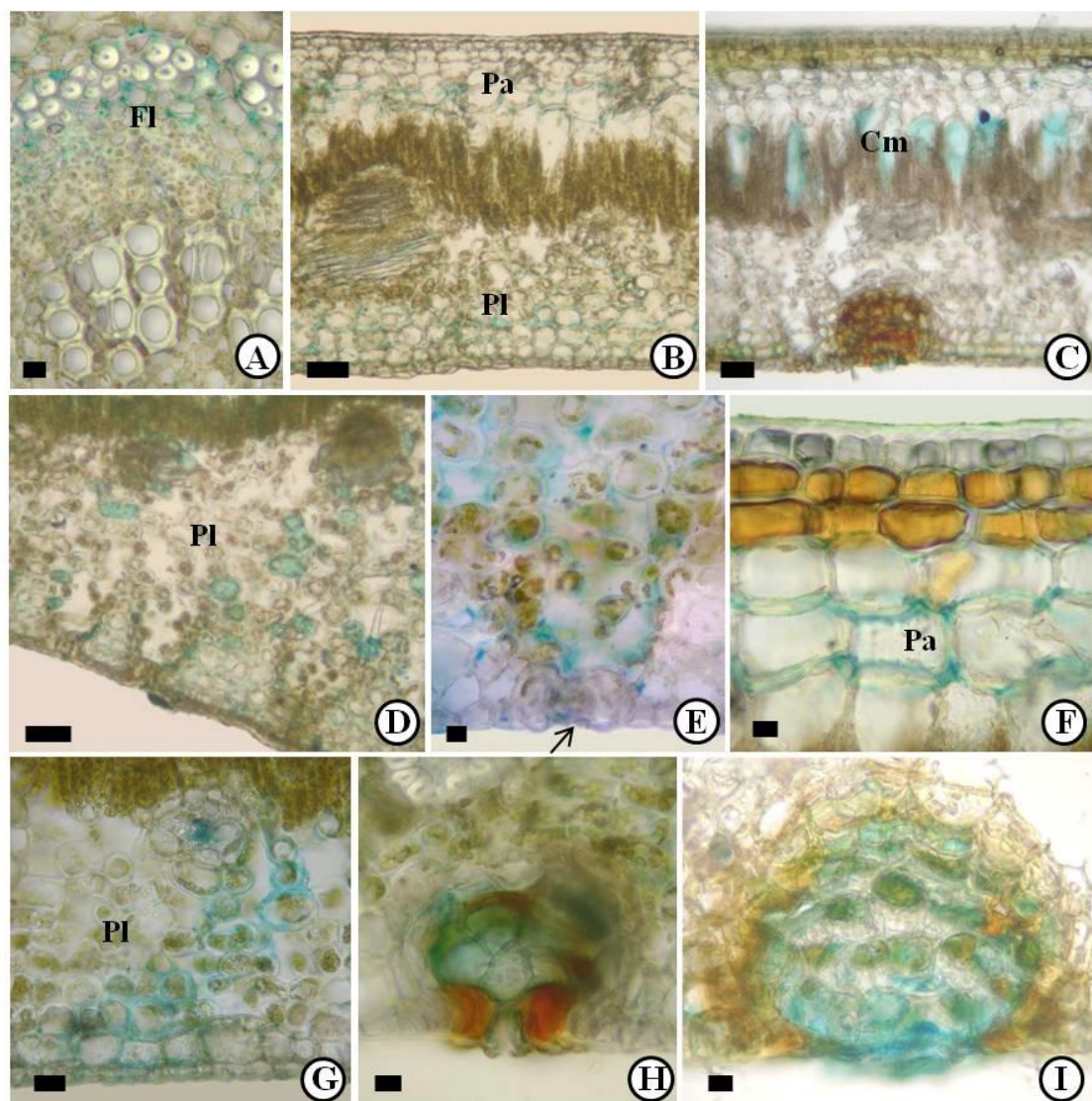


Figura 9

**Eliminação de Ferro pelas Glândulas de Sal em Folhas de *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn. (Combretaceae) e *Avicennia schaueriana* Stapft & Leechm (Acanthaceae)**

Hiulana Pereira Arrivabene\*<sup>1</sup>, Geisamanda Pedrini Brandão<sup>2</sup>, Camilla Rozindo Dias Milanez<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Espírito Santo, 29075-910, Vitória, Brasil.

<sup>2</sup> Departamento de Química, Universidade Federal do Espírito Santo, 29075-910, Vitória, Brasil.

\* Correspondência do autor: 55 27 33357797, hiulanaa@yahoo.com.br

O manuscrito será submetido ao periódico Biotropica, após tradução para língua inglesa.

## RESUMO

As florestas de mangue podem manter a carga interna de metais pesados em níveis muito inferiores quando comparada ao sedimento. O baixo nível de metais nas plantas tem sido atribuído, principalmente, à baixa disponibilidade de metais nos sedimentos e a adaptações anatômicas e fisiológicas nas raízes das espécies vegetais que dificultam a absorção de metais. O presente estudo teve por objetivo investigar o papel funcional das glândulas de sal presentes nas folhas de *Avicennia schaueriana* Stapft & Leechm e *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn. *in situ* na eliminação do metal ferro, por meio de teste histoquímico específico e análise química da secreção. Glândulas de sal, bem como tricomas glandulares, mostraram reação positiva ao teste com azul de Prússia, indicando acúmulo de ferro. Além disso, também foi observada reação em células do xilema, floema e parênquima cortical em *L. racemosa* e em células do colênquima, parênquima cortical, aquífero e lacunoso em *A. schaueriana*. Em ambas as espécies foi constatada a presença de ferro no material secretado (9,4 ng/cm<sup>2</sup> e 1025 ng/g massa seca em *A. schaueriana* e 11,6 ng/cm<sup>2</sup> e 1039 ng/g massa seca em *L. racemosa*). Estes resultados constituem o primeiro relato, ao nosso conhecimento, do valor funcional das glândulas de sal em folhas de *A. schaueriana* e *L. racemosa* na eliminação de ferro, representando uma importante estratégia adaptativa destas espécies às condições do ambiente manguezal.

Palavras-chave: adaptação, estrutura secretora, folha, mangue, metais pesados.

## INTRODUÇÃO

É DE CONSENSO GERAL QUE AS GLÂNDULAS DE SAL PRESENTES NAS folhas de algumas espécies de mangue são estruturas adaptativas à elevada concentração de sal no sedimento (Sobrado 2004, Ye *et al.* 2005). Estas estruturas secretam íons, principalmente  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$ , controlando o balanço interno de sal (Tomlinson 1986). Trabalhos mais recentes, entretanto, demonstraram que as glândulas de sal de *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh podem também secretar metais, como Zn e Cu (Macfarlane & Burchett 1999, 2000).

O manguezal é um ecossistema costeiro, de transição entre os ecossistemas marinho e terrestre e sujeito ao regime de marés (Yokoya 1995). De um modo geral, os sedimentos presentes nos manguezais são hipóxicos, redutores, ricos em matéria orgânica e possuem teores elevados de sal e de metais pesados (por exemplo, Ovalle *et al.* 1990). Contudo, apesar da alta concentração de metais nos sedimentos, as florestas de mangue podem manter a carga de metal interna em níveis muito inferiores quando comparados aos do sedimento (Tam & Wong 1997, Silva *et al.* 1998, Machado *et al.* 2002, Zhou *et al.* 2010). O baixo nível de metais nas plantas tem sido atribuído, principalmente, à baixa disponibilidade de metais nos sedimentos, devido à alta capacidade de adsorção da matéria orgânica e ao ambiente redutor resultante da atividade de microorganismos (Lacerda & Abrão 1984, Silva *et al.* 1990). Além disso, as adaptações anatômicas e fisiológicas nas raízes das espécies vegetais dificultam a absorção de metais por meio da oxidação do sedimento (Thibodeau & Nickerson 1986, Liu *et al.* 2009), da formação de placas de ferro na superfície radicular (Machado *et al.* 2005) e de barreiras na epiderme e endoderme (MacFarlane & Burchett, 2000). No entanto, a eficiência dessas barreiras à entrada de metais na planta depende da natureza do elemento e da fisiologia da espécie (Sarangi *et al.*

2002, MacFarlane & Burchett 2002, MacFarlane *et al.* 2003) e, assim, uma parte dos metais é transportada aos tecidos aéreos.

O ferro é um micronutriente essencial envolvido na biosíntese de clorofila e de várias proteínas, como catalase, peroxidases e superóxido dismutase (Marschner 1999). Sua translocação no tecido vegetal tem sido considerada baixa (por exemplo, Ghaly *et al.* 2008), devido à baixa remobilização no floema (Bauer & Hell 2006). Alguns estudos têm relatado baixos fatores de concentração para o ferro nas folhas de espécies de mangue (Saifullah *et al.* 2004, Bernini *et al.* 2006). Bernini *et al.* (2006) mostraram que os fatores de concentração para os micronutrientes em folhas de *A. schaueriana*, *A. germinans*, *L. racemosa* e *R. mangle* foram baixos, principalmente para o Fe, sendo que, dentre essas espécies, *R. mangle* exibiu menor acúmulo, enquanto *L. racemosa* apresentou incorporação preferencial por esse elemento.

*Laguncularia racemosa* e *Avicennia schaueriana* são espécies de mangue comumente encontradas no Estado do Espírito Santo, Brasil. Essas espécies possuem glândulas secretoras de sal nas suas folhas (Tomlinson 1986, Sobrado 2004, Martins & Moreira 2007), sendo classificadas como sal-secretoras (ver Parida & Jha 2010, para revisão).

Durante um estudo anatômico e histoquímico de folhas de *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn. e *Avicennia schaueriana* Stapft & Leechm chamou a atenção a presença de ferro nas glândulas de sal, fato ainda não relatado em literatura. Dessa forma, o presente estudo teve por objetivo investigar o papel funcional das glândulas de sal de *L. racemosa* e *A. schaueriana in situ* na eliminação de ferro, corroborando estudos recentes que apontam nessa direção. Nossa hipótese é que essas estruturas atuem na manutenção de um baixo teor de ferro encontrado nas folhas, como um mecanismo complementar às barreiras de entrada de metais presentes nas raízes.

## MÉTODOS

**ÁREA DE ESTUDO** - A amostragem foi realizada em fevereiro de 2010 em uma área de manguezal localizada na Reserva Ecológica dos Manguezais Piraquê-açu e Piraquê-mirim, município de Aracruz, Estado do Espírito Santo, Brasil, entre as coordenadas 19°56'26" S e 40°12'87" W (Figura 1). Este manguezal abrange 12,3 Km<sup>2</sup>, sendo considerada uma área bem preservada (Jesus *et al.*, 2009). A composição florística do bosque consiste em três espécies, *Avicennia schaueriana* Stapft & Leechm., *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn. e *Rhizophora mangle* L., não sendo observado um padrão de zonação entre as mesmas. O clima da região é do tipo Aw, segundo a classificação de Köppen (1948), com temperatura média mínima de 19,1 °C e máxima de 29,3 °C. A precipitação anual é cerca de 1.364 mm.

**ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA DO SEDIMENTO** - A análise consistiu na determinação do teor de ferro, matéria orgânica, granulometria, pH e salinidade, sendo realizada a partir de três amostras de sedimento coletadas próximas à rizosfera das espécies estudadas (0-20 cm de profundidade). As amostras foram consideradas repetições, pois na área estudada não havia qualquer padrão de zonação, indicando que as espécies estavam sob condições similares. Para análise de ferro, as amostras foram refrigeradas e depois secas em estufa de aço inoxidável à temperatura de 37,5°C até que se mantivesse um peso constante. O material seco foi triturado e peneirado em 4 malhas distintas (2mm, 1mm, 120µm, 65µm, respectivamente), sendo posteriormente digerido em uma mistura de 8 mL de ácido nítrico e 2 mL de ácido clorídrico em microondas Anton Paar 3000 Multiwave. A determinação do teor de ferro foi feita em triplicata utilizando espectrômetro de massa com fonte de plasma de acoplamento indutivo (ICP-MS), modelo Agilent Technologies 7700 Series. Foi utilizado o material de referência EnviroMAT Sewage Sludge BE-1. A salinidade das amostras foi medida por meio da condutividade da solução do solo.

A determinação do pH, teor de matéria orgânica e análise física do sedimento foram feitas no Laboratório de Análises Agronômicas e Consultoria para análise - Fullin. O pH e o teor de matéria orgânica foram determinados conforme Abreu *et al.* (2006) e a granulometria do sedimento foi determinada pelo método do densímetro (Embrapa 1997) e classificada de acordo com a Sociedade Brasileira de Ciência do Solo.

**CONTEÚDO DE FERRO NO TECIDO FOLIAR** - Foram utilizadas 10 folhas coletadas de quatro indivíduos, totalizando 40 folhas por espécie. As folhas foram lavadas em água destilada, depois em água ultrapura. O material vegetal foi seco em estufa à temperatura de 37,5°C até atingir peso constante. O material foi triturado com auxílio de grau e pistilo e, em seguida, foi submetido à digestão em microondas (Anton Paar 3000 multiwave) com uma solução de 10 mL de ácido nítrico p.a adicionalmente purificado por destilação em aparelho próprio para destilação de ácidos (Subboiling destilation, Berghof Alemanha). Os teores de ferro foram determinados de acordo com o método 200.8 descrito pela USEPA por meio de ICP-MS, sendo utilizado o material de referência Standard Reference Material 1547.

A fim de calcular o grau de acumulação do ferro no tecido foliar, foram determinados os fatores de concentração desse elemento em cada espécie (concentração de Fe no tecido foliar/concentração de Fe no sedimento).

**DETECÇÃO HISTOQUÍMICA DE FERRO NOS TECIDOS FOLIARES** - Amostras de folhas totalmente expandidas de quatro indivíduos de *L. racemosa* e *A. schaueriana*, situadas no terceiro nó a partir da gema apical, foram coletadas e lavadas em água destilada a fim de retirar algum depósito particulado ocorrente sobre a superfície foliar. Secções transversais do material vegetal fresco, obtidas à mão-livre, foram submetidas a uma solução de ferrocianeto de potássio 4% e ácido clorídrico 4%, denominada azul de Prússia (Bancroft *et al.* 1996), para a detecção de ferro no tecido foliar. Após 24 horas de reação, os

cortes foram lavados e montados em água entre lâmina e lamínula. A reação foi considerada positiva nas regiões que apresentaram coloração azul. Cortes de material sem coloração também foram analisados paralelamente, constituindo o negativo.

**CONTEÚDO DE FERRO NA SECREÇÃO SALINA** - Amostras de 10 folhas de cinco indivíduos de cada espécie foram lavadas com detergente neutro Extran 5% e, posteriormente, com água ultrapura sucessivas vezes. Os ramos amostrados foram envolvidos com sacos plásticos a fim de evitar qualquer depósito de material particulado ou de serem lavados por precipitação pluviométrica. Teve-se o cuidado de utilizar sacos plásticos transparentes a fim de minimizar as interferências na radiação fotossinteticamente ativa incidente nas folhas, o que poderia causar o fechamento estomático e conseqüente diminuição do fluxo transpiratório e da secreção (conforme observado por Scholander *et al.* 1962). Além disso, também foram feitas pequenas aberturas na parte inferior dos sacos para que não houvesse saturação na umidade do ar, o que também poderia causar uma diminuição no fluxo transpiratório. Após 24h, as folhas foram imersas em tubos de polipropileno TPP contendo 50 mL de ácido nítrico ultrapuro 0,1% por aproximadamente 3 s (adaptado de Manousaki *et al.* 2008). Os tubos utilizados foram previamente descontaminados utilizando Extran neutro 5% e HNO<sub>3</sub> 15% por 24h cada, e lavados finalmente com água ultra pura. A análise foi realizada em triplicata utilizando um espectrômetro de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS) ZEE nit 700 da Analytik Jena com um amostrador automático de líquidos MPE 60.

A fim de calcular a taxa de secreção por uma unidade de área e massa, foram feitas medições de área foliar (cm<sup>2</sup>) e massa seca foliar (g) das folhas utilizadas para coleta da secreção. A área foliar foi mensurada com o medidor de área foliar modelo Área Mater LICOR 3100 e a massa seca foi obtida com a pesagem das amostras após as mesmas serem secas em estufa a 60°C até peso constante.



## RESULTADOS

ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA DO SEDIMENTO - A fração granulométrica do sedimento da área de manguezal amostrada em Aracruz é composta em maior parte por silte e argila, sendo o sedimento classificado como argila siltosa. O teor de matéria orgânica foi de 11,1 dag/dm<sup>3</sup> ( $\pm 0,8$ ). A salinidade média foi 47,5 ( $\pm 6,1$ ) e o pH da área é levemente ácido (6,7  $\pm 0,5$ ) (Tabela 1). A concentração de ferro foi maior no sedimento (20759 mg/Kg massa seca) quando comparado à água intersticial (13,191 mg/L) (Tabela 2).

CONCENTRAÇÃO DE FERRO NO TECIDO FOLIAR E NA SECREÇÃO SALINA - No tecido foliar, houve acúmulo de ferro maior em *A. schaueriana* (282,53  $\pm 31,70$ ), em relação à *L. racemosa* (179,78  $\pm 32,45$ ). A análise da secreção salina em ambas as espécies apontou a presença de ferro, sendo que a concentração deste metal não diferiu significativamente entre as mesmas, mas foi ligeiramente maior em *L. racemosa* (11,6  $\pm 3,8$  ng/cm<sup>2</sup> e 1039  $\pm 319$  ng/g massa seca) quando comparada à *A. schaueriana* (9,4  $\pm 2,5$  ng/cm<sup>2</sup> e 1025  $\pm 241$  ng/g massa seca) (Tabela 2).

DETECÇÃO HISTOQUÍMICA DE FERRO NOS TECIDOS FOLIARES - Secções transversais do limbo de *L. racemosa* mostraram reação positiva ao teste histoquímico com azul de Prússia principalmente em células condutoras e parenquimáticas do xilema (Fig. 1A e B), mas também em células do floema e do parênquima cortical, na região da nervura central (Fig. 1A). Na área internervural, verificou-se a presença de ferro no xilema na cabeça secretora das glândulas de sal (Fig. 1C), bem como no material secretado (Fig. 1D). Em *A. schaueriana*, observou-se reação positiva ao teste em células do colênquima e parênquima cortical, na região da nervura central (Fig. 2A). Na área internervural, verificou-se o acúmulo de ferro em células do parênquima aquífero e lacunoso (Fig. 2B), incluindo aquelas que delimitam a câmara subestomática (Fig. 2C), em tricomas (Fig. 2D) e glândulas secretores de sal (Fig. 2E).

## DISCUSSÃO

As espécies de mangue *A. schaueriana* e *L. racemosa* possuem em suas folhas glândulas secretoras de sal, sendo classificadas como sal-secretoras (Thonlinson 1986, Parida & Jha 2010). Geralmente, plantas que possuem essa característica apresentam concentrações de sal na seiva xilemática mais elevadas do que aquelas que não possuem tais estruturas (Scholander *et al.* 1962), sendo o mecanismo de ultra-filtração de sal presente nas raízes responsável por essa diferença. Em *R. mangle*, uma espécie que não possui glândulas de sal, a hipoderme exterior e a endoderme parecem funcionar como duas bainhas de ultrafiltração, o que explicaria a menor concentração de sal encontrada na seiva (Werner & Stelzer 1990).

Os mecanismos de regulação de sal nas raízes acarretam em uma absorção diferencial de alguns elementos (Lacerda *et al.* 1985). Alguns trabalhos têm demonstrado que o teor de metais pesados, como o ferro, e outros nutrientes são maiores nas folhas de plantas sal-secretoras quando comparadas às espécies que não secretam sal (Cuzzuol & Campos 2001, Sarangi *et al.* 2002, Bernini *et al.* 2006). Concentrações maiores de ferro foliar foram relatadas em *Avicennia* e *Laguncularia*, em comparação com os teores observados em *Rhizophora* (Cuzzuol & Campos 2001, Bernini *et al.* 2006). Em nosso estudo, os teores de ferro foliares em *A. schaueriana* (282,53 mg/Kg massa seca) e *L. racemosa* (179,78 mg/Kg massa seca) foram superiores aos de *R. mangle* (dados não publicados) corroborando essa tendência.

O excesso de ferro no tecido vegetal pode levar ao estresse oxidativo pelo aumento da atividade de peroxidases (Kampfenkel *et al.* 1995, Fang & Kao 2000) e danos ao fotossistema II (Suh *et al.* 2002). Assim, a secreção de ferro a partir de glândulas de sal em espécies sal-secretoras parece ser uma estratégia adaptativa à maior carga de metal absorvida, evitando a toxidez desse metal.

Alguns trabalhos comprovaram a excreção de outros metais pelas glândulas de sal em plantas que vivem em alagados salinos (Burke *et al.* 2000, Windham *et al.* 2001, Weis *et al.* 2002). Esses ambientes possuem muitas similaridades com os manguezais, caracterizando-se por apresentar sedimentos anaeróbios e redutores e metais vinculados a sulfetos e à matéria orgânica (Lacerda & Abrão 1984). Assim, parece plausível que as espécies de mangue, assim como algumas macrófitas, apresentem mecanismos semelhantes para lidar com a alta carga de metal.

Os resultados obtidos no presente trabalho comprovam a eliminação de ferro por meio de estruturas secretoras de sal presentes nas folhas de *A. schaueriana* e *L. racemosa*. No que diz respeito à taxa de secreção desse metal, ambas as espécies apresentaram desempenho semelhante, porém não foi verificada relação entre a concentração desse metal e a taxa de secreção, visto que o teor de ferro foliar foi significativamente maior em *A. schaueriana*.

Não descartamos a hipótese de que os estômatos também estejam envolvidos na liberação de ferro para a superfície foliar. A figura 3B sugere uma rota de ferro tanto para a glândula de sal, como para os estômatos. Trabalhos relataram a excreção dos metais Cr, Cu, Pb, Zn e Hg por folhas de *Phragmites australis*, espécie que não possui glândulas de sal (Burke *et al.* 2000, Windham *et al.* 2001, Weis *et al.* 2002), o que possivelmente está relacionada com a perda de água pela transpiração (Burke *et al.* 2000).

Fitzgerald e Allaway (1991) concluíram que o fluxo da transpiração em *Avicennia marina* move-se simplásticamente até as glândulas de sal. No presente estudo, a detecção de ferro por meio do teste histoquímico nas paredes e no conteúdo celular sugere o transporte desse metal a curta distância tanto via apoplástica como simplástica, conforme relatado por Bauer e Hell (2006). A liberação de Fe nos vasos do xilema exige o efluxo Fe do simplasto para o espaço apoplástico. É geralmente aceito que o Fe está presente como

complexos Fe (III)-citrato no xilema, entretanto o mecanismo de absorção de Fe dos vasos do xilema em tecidos da folha ainda não está claro (Kim & Guerinot 2007).

Estes resultados constituem o primeiro relato, ao nosso conhecimento, do valor funcional das glândulas de sal em folhas de *A. schaueriana* e *L. racemosa* na eliminação de ferro, representando uma importante estratégia adaptativa destas espécies sal-secretoras às condições do ambiente manguezal. São necessários estudos que avaliem a possível eliminação de ferro por meio de estruturas secretoras de sal em outras sal-secretoras. Também sugerimos trabalhos futuros que investiguem em condições controladas a influência de diferentes concentrações de ferro e sal no sedimento na eliminação foliar de ferro com o objetivo de verificar, por exemplo, se a eliminação desse metal pelas glândulas de sal constitui um fator dose-resposta. Um outro aspecto que merece ser avaliado é se há diferença no teor de ferro secretado em folhas em diferentes estágios de desenvolvimento.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Fundo de Apoio à Ciência e Tecnologia do Município de Vitória (FACITEC) pela bolsa de mestrado fornecida à primeira autora (Proc. n° 3310/2009). Ao Instituto Superior de Investigação, Desenvolvimento e Serviços em Alimentos (ISIDSA) da Universidade Nacional de Córdoba (UNC) na Argentina e à bióloga Iara da Costa Souza pela análise de ferro no sedimento e no tecido foliar. Ao LabPetro-DQUI/UFES pela análise de ferro na secreção salina.

**LITERATURA CITADA**

- ABREU, M. F., J. C. ANDRADE, A.A. FALCÃO. 2006. Protocolos de análises químicas. *In* J. C. ANDRADE, M. F. ABREU (Eds.). Análise Química de Resíduos Sólidos para Monitoramento e Estudos Agroambientais, pp.121-1581. IAC, Campinas, SP.
- BANCROFT, J.D.; A. STEVENS, D.R. TURNER. 1996. Theory and practice of histological techniques. 766 p. Churchill Livingstone, New York.
- BAUER, P. e R. HELL. 2006. Translocation of Iron in Plant Tissues. *In* L. L. Barton; J. Abadia (Eds.). Iron Nutrition in Plants and Rhizospheric Microorganisms, pp. 279-288. Springer, Dordrecht.
- BERNINI, E., M. A. B. SILVA, T. M. S. CARMO, G. R. F. CUZZUOL. 2006. Composição química do sedimento e de folhas das espécies do manguezal do estuário do Rio São Mateus, Espírito Santo, Brasil. *Rev. Brasil. Bot.* 29 (4): 689-699.
- BURKE, D. J., J. S. WEIS, P. WEIS. 2000. Release of Metals by the Leaves of the Salt Marsh Grasses *Spartina alterniflora* and *Phragmites australis*. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 51: 153–159.
- CUZZUOL, G. R. F. e A. CAMPOS. 2001. Aspectos nutricionais na vegetação de manguezal do estuário do Rio Mucuri, Bahia, Brasil. *Rev. Brasil. Bot.* 24 (2): 227-234.
- EMBRAPA. 1997. Manual de métodos de análise de solo. 212 p. EMBRAPA - Centro Nacional de Pesquisa de Solo, Rio de Janeiro, RJ.
- FANG, W-C e C-H KAO. 2000. Enhanced peroxidase activity in rice leaves in response to excess iron, copper and zinc. *Plant Science* 158: 71–76.
- FITZGERALD, M. A. e W. G. ALLAWAY. 1991. Apoplastic and symplastic pathways in the leaf of the grey mangrove *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. *New Phytol.* 119: 217-226.

- GHALY, A. E., A. SNOW, M. KAMAL, S. H. MONFARED. 2008. American Journal of Iron Uptake and Translocation by Facultative and Obligate Wetland Plants. *Environmental Sciences* 4 (6): 608-619.
- JESUS, H.C., E. J. SANTANA, M. J. BELO, L. B. SILVA, C. S. CEOTTO, D. M. C. NEVES, L. B. CASTRO. 2009. Avaliação da poluição ambiental dos rios Piraquê-açu e Piraquê-mirim (Santa Cruz – ES) através da análise de águas, biomonitores e sedimentos. Relatório Técnico- Projeto Aracruz Celulose, Processo UFES nº 034373/2007-80.
- KAMPFENKEL, K, M. V. MONTAGU, D. INZÉ. 1995. Effects of Iron Excess on *Nicotiana plumbagnifolia* Plants Implications to Oxidative Stress. *Plant Physiol.* 107: 725-735.
- KIM, S. A. e M. L. GUERINOT. 2007. Mining iron: Iron uptake and transport in plants. *FEBS Letters* 581: 2273–2280.
- KÖPPEN, W. 1948. *Climatologia: con un studio de los climas de la tierra.* 478p. Fondo de Cultura Economica, México.
- LACERDA, L. D. DE e J. J. ABRÃO. 1984. Heavy metal accumulation by mangrove and saltmarsh intertidal sediments. *Revta Brasil. Bot.* 7: 49-52.
- LACERDA, L. D DE, C. E. REZENDE, D. V. JOSÉ, J. C. WASSERMAN, M. C. FRANCISCO. 1985. Mineral concentrations in leaves of mangrove trees. *Biotropica* 17 (3): 21-27.
- LIU, Y., N. F. Y. TAM, J. X. YANG, N. PI, M. H. WONG, Z. H. YE. 2009. Mixed heavy metals tolerance and radial oxygen loss in mangrove seedlings. *Mar. Pollut. Bull.* 58: 1843–1849.
- MACFARLANE, G. R. e M. D. BURCHETT. 1999. Zinc distribution and excretion in the leaves of the grey mangrove, *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. *Environ. Exp. Bot.* 41: 167–175.

- MACFARLANE, G.R. e M. D. BURCHETT. 2000. Cellular distribution of copper, lead and zinc in the grey mangrove, *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh Aquat. Bot. 68: 45–59.
- MACFARLANE, G. R. e M. D. BURCHETT. 2002. Toxicity, growth and accumulation relationships of copper, lead and zinc in the grey mangrove *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. Mar. Environ. Res. 54: 65–84.
- MACFARLANE, G. R., A. PULKOWNIK, M. D. BURCHETT. 2003. Accumulation and distribution of heavy metals in the grey mangrove, *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh.: biological indication potential. Environ. Pollut. 123: 139–151.
- MACHADO, W.; E. V. SILVA-FILHO, R. R. OLIVEIRA, L. D. LACERDA. 2002. Trace metal retention in mangrove ecosystems in Guanabara Bay, SE Brazil. Mar. Pollut. Bull. 44: 1277–1280.
- MACHADO, W.; B. B. GUEIROS, S. D. LISBOA-FILHO, L. D. LACERDA. 2005. Trace metals in mangrove seedlings: role of iron plaque formation. Wetlands Ecology and Management 13: 199–206.
- MANOUSAKI, E., J. KADUKOVA, N. PAPADANTONAKIS, N. KALOGERAKIS. 2008. Phytoextraction and phytoexcretion of Cd by the leaves of *Tamarix smyrnensis* growing on contaminated non-saline and saline soils. Environ. Res. 106 (3): 326-332.
- MARSCHNER, H. 1999. Mineral Nutrition of Higher plants. 889p. Academic Press, New York, NY.
- MARTINS, M. B. G. e V. L. MOREIRA. 2007. Caracterização Histológica das folhas de *Avicennia schaueriana* Stapf & Leechman (Avicenniaceae). Fafibe 3: 1-8.
- OVALLE, A. R. C., C. E. REZENDE, L. D. LACERDA, C. A. R. SILVA. 1990. Factors Affecting the Hydrochemistry of a Mangrove Tidal Creek, Sepetiba Bay, Brazil. A. R. C. Estuarine, Coastal and Shelf Science 31: 639-650.

- PARIDA, A. K. e B. JHA. 2010. Salt tolerance mechanisms in mangroves: a review. *Trees* 24: 199–217.
- SAIFULLAH, S. M.; S. ISMAIL, S. H. KHAN, M. SALEEM. 2004. Land Use—Iron Pollution in Mangrove Habitat of Karachi, Indus Delta. *Earth Interactions* 8 (17): 1-9.
- SARANGI, R. K., KATHIRESAN, K., SUBRAMANIAN, A. N. 2002. Metal concentrations in five mangrove species of the Bhitarkanika, Orissa, east coast of India. *Indian J. Mar. Sci.* 31 (3): 251-253.
- SCHOLANDER, P. F., H. T. HAMMEL, E. HEMMINGSEN, W. GAREY. 1962. Salt Balance in Mangroves. *Plant Physiol.* 37(6): 722–729.
- SILVA, C. A. R., L. D. LACERDA, C. E. REZENDE. 1990. Metals reservoir in a red mangrove forest. *Biotropica* 22 (4): 339-345.
- SILVA, C. A. R., L. D. LACERDA, A. R. OVALLE, C. E. REZENDE. 1998. The dynamics of heavy metals through litterfall and decomposition in a red mangrove Forest. *Mangroves and Salt Marshes* 2: 149–157.
- SOBRADO, M. A. 2004. Influence of external salinity on the osmolality of xylem sap, leaf tissue and leaf gland secretion of the mangrove *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn. *Trees* 18: 422–427.
- SUH, H-J; C. S. KIM, J-Y. LEE, J. JUNG. 2002. Research Note Photodynamic Effect of Iron Excess on Photosystem II Function in Pea Plants. *Photochem. Photobiol.* 75(5): 513–518.
- TAM, N. F. Y. e Y-S. WONG. 1997. Accumulation and distribution of heavy metals in a simulated mangrove system treated with sewage. *Hydrobiologia* 352: 67–75.
- THIBODEAU, F. R. e N. H. NICKERSON. 1986. Differential oxidation of mangrove substrate by *Avicennia germinans* and *Rhizophora mangle*. *Amer. J. Bot.* 73(4): 512-516.



- TOMLINSON, P. B. 1986. The botany of mangroves. 419p. Cambridge University Press, New York, NY.
- VANNUCCI, M. 1999. Os manguezais e nós: Uma síntese de percepções. 276p. EDUSP, São Paulo, SP.
- WEIS, P., L. WINDHAM, D. J. BURKE, J. S. WEIS. Release into the environment of metals by two vascular salt marsh plants. *Mar. Environ. Res.* 54 (2002) 325–329.
- WERNER, A. e R. STELZER. 1990. Physiological responses of the mangrove *Rhizophora mangle* grown in the absence and presence of NaCl. *Plant, Cell Environ.* 13: 243-255.
- WINDHAM, L.; J. S.WEIS, P. WEIS. 2001. Patterns and Processes of Mercury Release from Leaves of Two Dominant Salt Marsh Macrophytes, *Phragmites australis* and *Spartina alterniflora*. *Estuaries*, 24 (6): 787–795.
- YE, Y, N. F. Y. TAM, C. Y. LU, Y. S. WONG. 2005. Effects of salinity on germination, seedling growth and physiology of three saltsecreting mangrove species. *Aquat Bot* 83: 193–205.
- YOKOYA, N. S. 1995. Distribuição e origem. *In* Yara Schaeffer-Novelli (Ed.). *Manguezal: Ecossistema entre a terra e o mar*. pp. 9-12. Caribbean ecological research, São Paulo, SP.
- ZHOU, Y-W., B. ZHAO, Y-S. PENG, G-Z. CHEN. 2010. Influence of mangrove reforestation on heavy metal accumulation and speciation in intertidal sediments. *Mar. Pollut. Bull.* 60: 1319–1324.

## TABELAS

Tabela 1. Frações granulométricas (%), classificação textural, teor de matéria orgânica ( $\text{dag}/\text{dm}^3$ ), pH e salinidade do sedimento no manguezal em Aracruz.

Granulometria					Classificação textural	M.O	pH	Salinidade
Areia grossa	Areia fina	Areia total	Silte	Argila				
5,5 ± 2,2	1,7 ± 0,5	7,3 ± 1,8	51,4 ± 0,6	41,3 ± 2,3	Argila siltosa	11,1 ± 0,8	6,7 ± 0,5	47,5 ± 6,1

Tabela 2. Concentração de Fe no sedimento ( $\text{mg}/\text{Kg}$  massa seca), nas folhas ( $\text{mg}/\text{Kg}$  massa seca), na secreção ( $\text{ng}/\text{cm}^2$  e  $\text{ng}/\text{g}$  massa seca) e fator de concentração (FC) das espécies de estudo no manguezal em Aracruz.

	Sedimento $\text{mg}/\text{Kg}$	Folhas $\text{mg}/\text{Kg}$	Secreção $\text{ng}/\text{cm}^2$	Secreção $\text{ng}/\text{g}$	FC
<i>A. schaueriana</i>	20759 ± 1560	282,53 ± 15,8	9,4 ± 2,5	1025 ± 241	0,014
<i>L. racemosa</i>		179,78 ± 16,2	11,6 ± 3,8	1039 ± 319	0,009

## LEGENDA DAS FIGURAS

Figura 1. Localização da área de estudo (coordenadas 19°56'26.2" S e 40°12'87.0" W).

Figura 2. Detecção de ferro pelo teste histoquímico com azul de Prússia em secções transversais do limbo de *L. racemosa*. A-B. Nervura central. A. Aspecto geral. B. Detalhe do xilema. C-D. Área internervural. C. Aspecto geral. D. Detalhe da glândula de sal mostrando reação positiva ao teste na secreção. (Fl = floema; Gs = glândula de sal; Pc = parênquima cortical; Xi = xilema). A seta representa a cabeça secretora da glândula de sal. Barras = 100µm (A), 50µm (C), 20µm (D), e 10µm (B).

Figura 3. Detecção de ferro pelo teste histoquímico com azul de Prússia em secções transversais do limbo de *A. schaueriana*. A. Nervura central. B-E. Área internervural. B. Aspecto geral. C. Detalhe do estômato mostrando a detecção de ferro nas células que circundam a câmara subestomática. D. Detalhe do tricoma glandular mostrando o ferro no interior (ponta da seta). E. Detalhe da glândula de sal. Notar a presença de ferro no interior da glândula (\*). (Co = colênquima; Gs = glândula de sal; Pa = parênquima aquífero; Pc = parênquima cortical; Pl = parênquima lacunoso). As setas representam os estômatos. Barras = 100µm (A), 50µm (B) e 10µm (C, D e E).

## FIGURAS

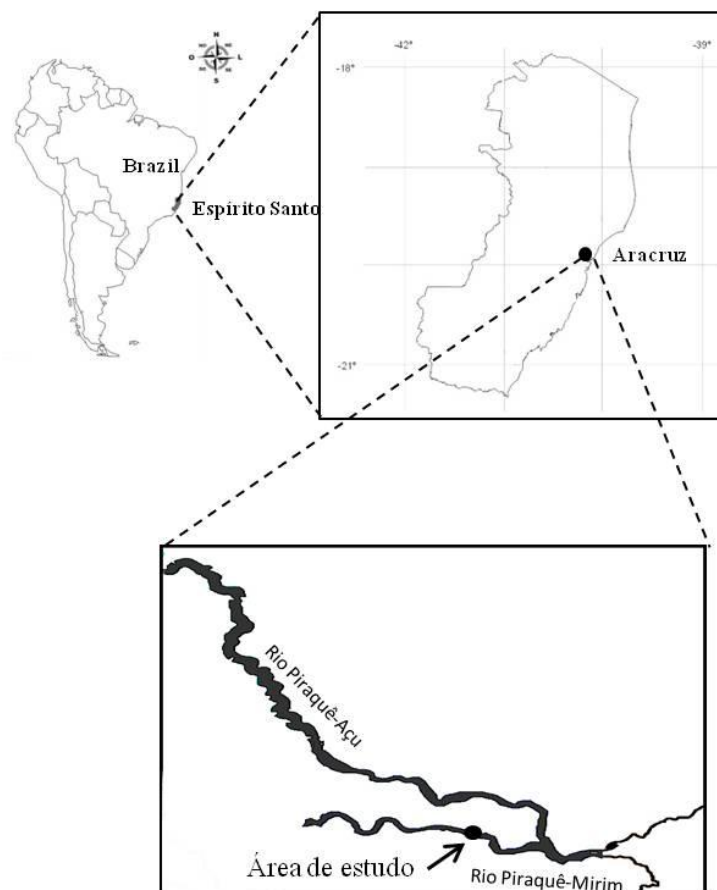


Figura 1

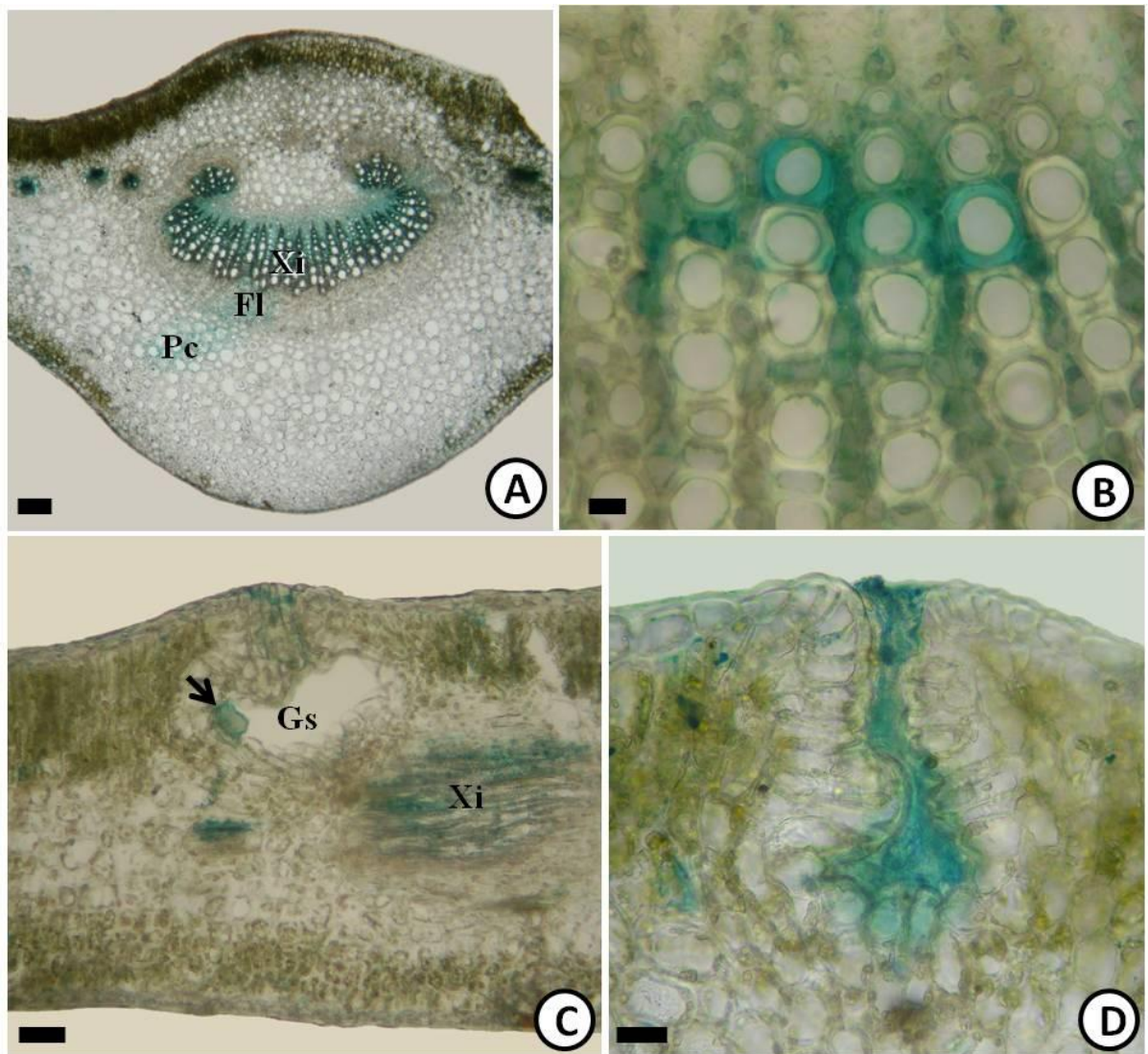


Figura 2

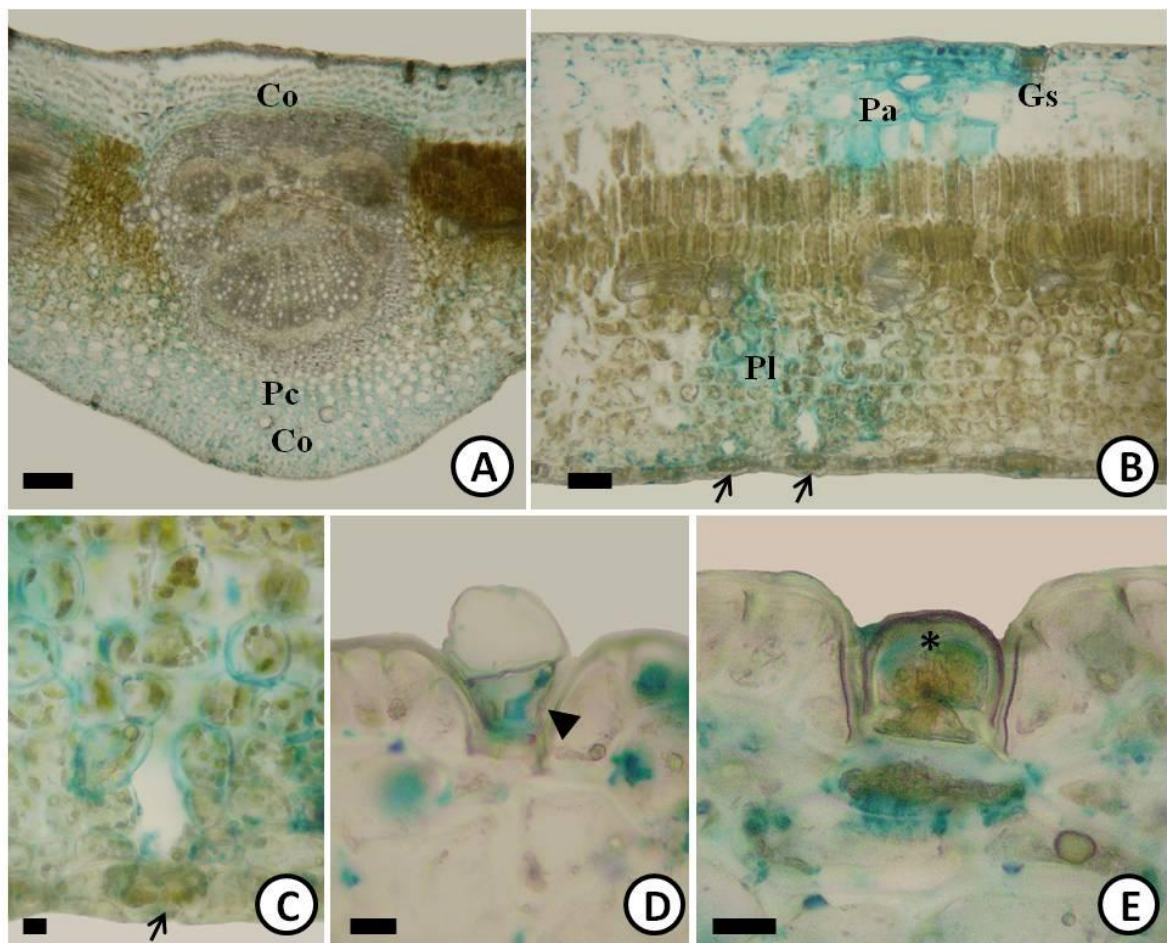


Figura 3

**Plasticidade morfoanatômica foliar de *Rhizophora mangle* L., *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn. e *Avicennia schaueriana* Stapft & Leechm. ocorrentes em cinco áreas de manguezal do Estado do Espírito Santo, Brasil**

Hiulana Pereira Arrivabene\*<sup>a</sup>, Camilla Rozindo Dias Milanez<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Universidade Federal do Espírito Santo, Departamento de Ciências Biológicas, 29075-910, Vitória, Brasil.

\* Autor para correspondência: 55 27 33357797, hiulanaa@yahoo.com.br

O manuscrito será submetido ao periódico Flora, após tradução para língua inglesa.

## RESUMO

Poucos trabalhos relatam a possível influência do ambiente nas características anatômicas e morfológicas foliares de espécies de mangue, sendo a maioria dos trabalhos desenvolvida em condições controladas. O objetivo deste estudo foi avaliar a plasticidade morfoanatômica foliar de *Rhizophora mangle* L., *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn. e *Avicennia schaueriana* Stapft & Leechm em cinco áreas de manguezal do Estado do Espírito Santo, Brasil, visando identificar caracteres adaptativos às diferentes condições ambientais. Em geral, os indivíduos localizados no manguezal de Conceição da Barra, local de maior salinidade e radiação solar, se destacaram pela maior espessura de cutícula, epiderme, parênquima aquífero, paliçádico e clorofiliano e espessura total do limbo. A radiação solar parece ter maior influência na densidade estomática de *A. schaueriana* e *R. mangle*, enquanto o número de estômatos de *L. racemosa* parece sofrer maior influência da salinidade. Os indivíduos de *A. schaueriana* e *L. racemosa* exibiram maior densidade de glândulas de sal da face adaxial das folhas na área de manguezal mais salina. De um modo geral, as espécies ocorrentes em Conceição da Barra apresentaram menor área foliar e maior massa foliar específica, ao passo que os indivíduos localizados no Canal da Passagem (local de menor salinidade) exibiram maior área foliar e menor massa foliar específica. Os resultados obtidos no presente estudo refletem a plasticidade morfoanatômica nas três espécies avaliadas, evidenciando o valor adaptativo dos caracteres avaliados.

Palavras-chave: adaptação, anatomia, folha, mangue, radiação solar, salinidade.



## INTRODUÇÃO

O manguezal é um ecossistema costeiro, distribuído principalmente nas regiões tropicais (Yokoya, 1995), sendo suas espécies caracterizadas por tolerar amplas flutuações de salinidade e alta radiação solar. Algumas das adaptações anatômicas e fisiológicas dos mangues para lidar com tais fatores incluem ultra-filtração dos sais nas raízes (Scholander et al., 1962), baixa condutância estomática (Parida et al., 2004), ângulos foliares mais íngremes (Tüffers et al. 1999), redução da área foliar (Sobrado 2007), aumento da suculência foliar (Sobrado, 2004; 2005; Suárez e Sobrado, 2000), secreção de sal por meio de glândulas de sal (Sobrado, 2004; Ye et al., 2005) e acumulação foliar de íons (Cram et al., 2002; Hwang e Chen, 1995; Suárez e Sobrado, 2000). A maior eficiência no uso da água tem sido relatada como o sucesso eco-fisiológico dessas espécies (Sobrado, 2005; Ye et al., 2005) que, em geral, apresentam maior estabelecimento em baixas concentrações de sal no sedimento (Ball 1998).

Os manguezais do Brasil ocupam uma área aproximada de 1.376.255 ha (Kjerfve & Lacerda, 1993) e apresentam em sua composição florística os gêneros *Avicennia* L., *Laguncularia* Gaertn. e *Rhizophora* L., sendo as *Rhizophora mangle* L., *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn., *Avicennia schaueriana* Stapft & Leechm. as mais comuns. A descrição anatômica dessas espécies é bem conhecida (por exemplo, Evans et al., 2005; Evans e Bromberg, 2010; Francisco et al., 2009; Martins e Moreira, 2007; Menezes, 2006; Thonlinson, 1986; Tomlinson e Cox, 2000), porém, poucos trabalhos relatam a possível influência do ambiente nas características anatômicas e morfológicas foliares (Camilleri e Ribí, 1983; Ellison e Farnsworth, 1997; Farnsworth et al., 1996; Farnsworth e Ellison, 1996; Feller, 1996; Sobrado, 2007; Werner and Stelzer, 1990), sendo que destes apenas Camilleri e Ribí (1983), Farnsworth e Ellison (1996) e Feller (1996) analisaram material vegetal *in situ*.

A avaliação das características foliares em indivíduos sob condições naturais fornece um conhecimento importante a respeito dos fatores abióticos de maior influência sobre cada espécie. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a plasticidade morfoanatômica foliar de *Rhizophora mangle* L., *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn. e *Avicennia schaueriana* Stapft & Leechm em cinco áreas de manguezal do Estado do Espírito Santo, Brasil, visando identificar caracteres adaptativos às diferentes condições ambientais, sobretudo de salinidade e radiação solar, a que essas espécies estão expostas.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Área de estudo

Para o presente estudo foram selecionadas cinco áreas de manguezal localizadas em quatro municípios do Estado do Espírito Santo: Vitória, Cariacica, Aracruz e Conceição da Barra. Para município de Vitória foram escolhidos dois pontos de amostragem, sendo um no Canal da Passagem (20°18'95.7"S e 40°22'12.8"W) e outro na Ilha do Lameirão (20°14'60.6"S e 40°18'68.6"W) (Figura 1).

O ponto de amostragem em Cariacica (20°18'95.8"S e 40°22'13.0"W) localiza-se próximo a uma ferrovia de transporte de minério de ferro, estando exposto à carga elevada de ferro particulado, além de estar submetido ao lançamento direto de esgoto. Esta área de manguezal, juntamente com a da Ilha do Lameirão e do Canal da Passagem fazem parte do sistema estuarino da Ilha de Vitória, o qual ocupa aproximadamente uma área de 18 Km<sup>2</sup>.

O manguezal de Aracruz é considerada uma área bem preservada (Jesus et al., 2009) e ocupa uma área aproximada de 12 Km<sup>2</sup>, sendo formado pelos estuários dos rios Piraquê-açu e Piraquê-mirim. O ponto de amostragem (19°56'26.2" S e 40°12'87.0" W) está localizado no estuário do rio Piraquê-mirim, o qual faz parte da Reserva Ecológica dos Manguezais Piraquê-açu e Piraquê-mirim.

O ponto de amostragem em Conceição da Barra (18°33'55.2"S e 39°43'98.1"W) é localizado na foz do Rio Itaúnas, local conhecido como Praia de Guaxindiba. O principal impacto sofrido por este manguezal é o assoreamento ocorrido após a abertura de uma foz artificial, objetivando a interrupção do processo erosivo que destruía parte de um empreendimento hoteleiro (Cepemer, 2004). Consiste de um pequeno bosque de manguezal, localizado a cerca de 30 m do mar, sobre sedimento arenoso, sendo estruturalmente mais aberto do que os demais.

Segundo a classificação de Köppen (1948), o clima do estado do Espírito Santo é tropical, sendo do tipo Aw em Vitória, Cariacica e Aracruz e do tipo Am em Conceição da Barra.

### **Material botânico**

O material botânico constou de folhas totalmente expandidas, situadas no terceiro ao quarto nó a partir da gema apical, sendo coletado de quatro indivíduos adultos de *Rhizophora mangle* L. (Rhizophoraceae), *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn. (Combretaceae) e *Avicennia schauerianna* Stapf. & Leechman (Acanthaceae). As exsicatas das espécies foram depositadas no Herbário Central da Universidade do Espírito Santo VIES, sob os números de tombo 19649, 19650 e 19651. As coletas foram realizadas em fevereiro de 2010.

### **Estudo anatômico**

Amostras do terço mediano da lâmina foliar das três espécies estudadas foram fixadas em FAA 50 (Johansen, 1940) e estocadas em etanol 70%. O material foi desidratado em série etílica crescente e incluído em historresina glicol-metacrilato (Leica®), segundo Gerrits (1964). Foram realizadas secções transversais da área

internervural com auxílio de micrótomo rotativo, com espessura de 8  $\mu\text{m}$ . Posteriormente, os cortes foram corados com solução de Azul de Toluidina 0,05% (O'Brien et al., 1964) e montados em bálsamo-do-canadá. A análise anatômica quantitativa foi realizada por meio de medições da espessura total do limbo, da cutícula, das células epidérmicas de ambas as faces da folha, da hipoderme e do parênquima clorofiliano. Para tal, foram realizadas oito medições na região internervural de quatro indivíduos, totalizando trinta e duas medições por espécie em cada área de estudo. Foi determinada também a densidade estomática e glandular ( $\text{mm}^2$ ) em ambas as superfícies da folha por meio da técnica de impressão, utilizando uma gota de adesivo instantâneo universal éster de cianoacrilato (Super-Bonder®) em uma lâmina histológica, de forma a obter a impressão da epiderme a ser analisada. Para tanto, foram analisados seis campos ópticos aleatórios da região internervural de quatro indivíduos, totalizando vinte e quatro campos ópticos em cada face foliar para cada espécie em cada área de estudo.

As mensurações foram feitas com auxílio de sistema de captura de imagens acoplado ao microscópio Nikon E200 por meio do software –Tsview, e os resultados foram documentados por meio de fotomicrografias obtidas em fotomicroscópio Nikon E200.

### **Análise morfológica foliar**

A análise de medidas de crescimento consistiu na determinação da área foliar ( $\text{cm}^2$ ), massa seca (g) e massa foliar específica, obtida pela razão massa seca/área foliar ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ). Para tanto, foram coletadas 10 folhas de 10 indivíduos para cada espécie em cada área estudada. A área foliar foi mensurada com o medidor de área foliar modelo Área Mater LI-COR 3100 e a massa seca foi obtida com a pesagem das amostras após as mesmas serem secas em estufa a  $60^\circ\text{C}$  até peso constante.

### **Avaliação da radiação fotossinteticamente ativa**

Em cada área de estudo foram realizadas 6 medições da radiação fotossinteticamente ativa incidente ( $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ), com o sensor Field Scout Quantum Light Meters, sendo o valor obtido pela média aritmética usado para representar cada área de estudo.

### **Análise físico-química do sedimento**

Durante a maré baixa, foram coletadas três amostras de sedimento (0-20 cm de profundidade) entre as raízes de cada espécie, as quais foram homogeneizadas resultando em três repetições para cada área estudada. As amostras foram consideradas repetições, pois os manguezais estudados não apresentam qualquer padrão de zonação, indicando que as espécies estavam sob condições similares. As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos etiquetados e enviadas ao Laboratório de Análises Agronômicas e Consultoria para análise -Fullin.

A granulometria do sedimento foi determinada pelo método do densímetro (Embrapa, 1997) e a classificação textural seguiu de acordo com a Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. O pH e o teor de matéria orgânica foram determinados conforme Abreu et al. (2006). A salinidade das amostras foi medida por meio da condutividade da solução do solo.

### **Análise estatística**

Os dados referentes à anatomia quantitativa, morfologia foliar, análise físico-química do sedimento e radiação fotossinteticamente ativa foram submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey, utilizando-se o programa estatístico Assistat versão 7.5 beta. Os dados quantitativos obtidos pelas análises

anatômicas e morfológicas foliares também foram submetidos ao teste estatístico de análise de agrupamento, utilizando-se o índice de distância euclidiana.

## **RESULTADOS**

### **Anatomia foliar quantitativa**

Os indivíduos amostrados no manguezal de Conceição da Barra das três espécies estudadas apresentaram maior espessura de cutícula e parênquima paliçádico. Ainda nesta área, os maiores valores de espessura de parênquima aquífero e limbo foram encontrados em *A. schaueriana* e *L. racemosa*, enquanto maior espessura de epiderme em ambas as faces foram observadas em *R. mangle*; em *A. schaueriana* apenas a epiderme da face adaxial mostrou-se mais espessa. Ao analisar a espessura do parênquima lacunoso, não foi observada diferença estatística em *A. schaueriana* entre as áreas estudadas, sendo em *R. mangle* este tecido mostrou-se mais espesso nos indivíduos ocorrentes na Ilha do Lameirão. Com relação à razão parênquima paliçádico/parênquima lacunoso, apenas os indivíduos de *A. schaueriana* apresentaram valor maior em Conceição da Barra (Tabelas 1-3 e Fig. 2).

Maior densidade estomática foi encontrada no manguezal de Conceição da Barra em indivíduos de *R. mangle* e *A. schaueriana*, enquanto *L. racemosa* mostrou valores maiores para os indivíduos ocorrentes na Ilha do Lameirão. A densidade de glândulas de sal da face adaxial de *A. schaueriana* e *L. racemosa* foi maior em Conceição da Barra, não sendo observada diferença significativa no número de glândulas na face abaxial entre as demais áreas estudadas (Tabela 4).

### **Morfologia foliar**

Em *R. mangle*, as menores médias para área foliar foram encontrados nos indivíduos ocorrentes nos manguezais de Cariacica e de Conceição da Barra. Os indivíduos de *L. racemosa* mostraram menor área foliar em Aracruz, enquanto que para *A. schaueriana* os valores foram menores nos indivíduos de Conceição da Barra. Para as três espécies estudadas, a massa foliar específica foi maior em Conceição da Barra e menor no Canal da Passagem (Tabela 5).

### **Análise de agrupamento**

Para as três espécies estudadas, a análise de agrupamento das características anatômicas e morfológicas foliares nos indivíduos das cinco áreas de manguezal analisadas mostrou a formação de dois grupos a uma distância 0,17 na escala euclidiana, sendo um formado pelos indivíduos do Canal da Passagem, da Ilha do Lameirão, de Cariacica e de Aracruz e outro formado pelos indivíduos de Conceição da Barra (Fig. 3-5).

As características foliares que mais contribuíram para a diferenciação dos indivíduos entre as áreas estudadas, para o componente de maior informação retida ( $Y_1$ ), foram: espessuras da cutícula, do parênquima paliçádico, razão parênquima paliçádico/parênquima lacunoso e densidade de glândulas de sal em ambas as faces da epiderme para *A. schaueriana*; espessura de parênquima aquíífero, espessura total do limbo e densidade de glândulas da face adaxial para *L. racemosa*; e espessuras da cutícula, da epiderme da face abaxial, do parênquima paliçádico e razão massa seca/área foliar para *R. mangle* (Tabelas 6-8).

### **Radiação fotossinteticamente ativa**

Os valores de radiação fotossinteticamente ativa apresentaram ampla variação em uma mesma área de estudo, o que está relacionado à sensibilidade do sensor ao movimento

da copa das árvores. Entretanto, foi possível verificar uma clara distinção entre a área de manguezal de Conceição da Barra e os demais manguezais, os quais mostraram valores muito menores de radiação (Tabela 9).

### **Análise do sedimento**

A composição granulométrica do sedimento mostrou ampla variação entre as áreas estudadas, com maior percentual de areia em Conceição da Barra e de argila em Aracruz. A salinidade variou entre 33,1 e 59, sendo menor na Ilha do Lameirão e maior em Conceição da Barra. O pH variou de ácido (4,2) na Ilha do Lameirão a básico (8,1) em Conceição da Barra. O sedimento de Conceição da Barra apresentou menor teor de matéria orgânica (0,7 dag/Kg), enquanto o maior teor foi observado na Ilha do Lameirão (16,7 dag/Kg) (Tabela 10).

## **DISCUSSÃO**

Considerando os parâmetros morfoanatômicos avaliados, a análise de agrupamento mostrou que os indivíduos de Conceição da Barra apresentaram alto grau de dissimilaridade em relação àqueles das demais áreas de manguezal estudadas, sendo que os caracteres anatômicos mostraram maior contribuição para esse resultado.

As folhas de espécies de mangue comumente apresentam caracteres anatômicos de ambientes xéricos, que possuem alto valor adaptativo (Das, 1999; Yuanyue et al., 2009). Esses caracteres podem variar conforme as condições do ambiente, de modo a conferir uma plasticidade adaptativa. Em nosso estudo, os indivíduos de *A. schaueriana*, *L. racemosa* e *R. mangle* localizados no manguezal de Conceição da Barra se destacaram, em geral, pelos valores maiores dos caracteres anatômicos quantitativos avaliados, os quais parecem refletir, principalmente, a maior salinidade e maior radiação solar nessa área.



A maior espessura de cutícula nos indivíduos amostrados em Conceição da Barra, área de alta incidência luminosa, representa uma característica de extrema importância nesse ambiente, pois, além de refletir parte da radiação incidente, protegendo o tecido fotossintético (Solovchenko e Merzlyak, 2003), minimiza a transpiração cuticular (Nandy (Datta) et al., 2005). Segundo Dodd et al. (1999), em *Avicennia marina*, a cutícula parece ter sido o fator responsável pela evolução desta espécie em condições mais áridas. Diversos trabalhos têm demonstrado que a alta incidência luminosa nas plantas também acarreta em maior desenvolvimento da epiderme e do parênquima paliçádico, os quais podem auxiliar na fotoproteção (Marques et al., 1999; Rossatto e Kolb, 2010) e contribuir para a obtenção de altas taxas fotossintéticas (Chazdon e Kaufmann, 1993; Serret e Trillas, 2000), respectivamente. Em contrapartida, o aumento da salinidade pode levar à diminuição da espessura da epiderme e do mesófilo, como observado por Parida et al. (2004) em *Bruguiera parviflora*. Assim, a maior espessura desses tecidos nas espécies amostradas em Conceição da Barra também parece refletir a alta luminosidade dessa área.

Com relação à espessura do parênquima lacunoso, o maior valor encontrado nos indivíduos de *R. mangle* ocorrentes na Ilha do Lameirão, local de menor salinidade, corroboram os resultados encontrados por Parida et al. (2004), os quais verificaram uma diminuição desse tecido em salinidade mais elevadas. Em solos menos salinos, o aumento dos espaços intercelulares desse tecido pode contribuir para uma maior condutância estomática, acarretando em maiores taxas fotossintéticas (Nandy et al., 2007).

Em espécies de mangue, o aumento da hipoderme aquífera resulta em maior suculência foliar (Thonlinson, 1986), a qual permite que a planta acumule o sal adicional nas células das folhas, mantendo o ajuste osmótico (Clough et al., 1982). Vários trabalhos têm relatado que, em condições mais salinas, o aumento da concentração de íons nas folhas é acompanhado do aumento da suculência foliar, conforme observado em *Laguncularia* e

*Avicennia* (Cram et al., 2002; Sobrado, 2005; Suárez e Sobrado, 2000). Os resultados obtidos no presente trabalho reforçam essa tendência para *A. schaueriana* e *L. racemosa*. Contudo, essa resposta não foi observada em *R. mangle*, ao contrário do relatado por Werner e Stelzer (1990). Para *Kandelia candel*, outra espécie de Rhizophoraceae, a substituição do Na por K não levou ao aumento da suculência em altas salinidades (Hwang e Chen, 1995). Para as espécies de mangue o aumento da espessura do limbo é freqüentemente associado ao maior desenvolvimento do tecido aquífero (Camilleri e Ribi, 2003; Cram et al., 2002; Sobrado, 2007; Werner e Stelzer, 1990) como verificado em *A. schaueriana* e *L. racemosa*.

Em relação à densidade estomática, os valores encontrados nas folhas de *R. mangle* e *A. schaueriana* refletiram a maior radiação solar no manguezal de Conceição da Barra. O aumento do número de estômatos por área foliar em locais de alta incidência luminosa é comumente relatado em diversos trabalhos (György, 2009; Marques et al., 1999, 2000; Pearce et al., 2005; Smith et al., 1998) e pode ser vantajoso no que tange à diminuição da transpiração (Larcher, 2004). Além disso, essa característica pode permitir maior condutância estomática (Pearce et al., 2005), a qual está relacionada a maiores taxas fotossintéticas (Mott e Michaelson, 1991). Entretanto, este padrão não foi observado para os indivíduos de *L. racemosa*, o que possivelmente seja devido ao aumento da suculência (Thonlinson, 1986), em resposta à elevada salinidade em Conceição da Barra. Para *L. racemosa* (Sobrado, 2007) e outras espécies de mangue (Parida et al., 2004; Werner e Stelzer, 1990), a densidade estomática diminui em resposta ao aumento da concentração salina. No presente trabalho, o número menor de estômatos por área foliar nos indivíduos ocorrentes no manguezal de Conceição da Barra, local de maior salinidade, e maior naqueles localizados na Ilha do Lameirão, onde foi registrada a menor salinidade, reforçam

a maior influência da salinidade na densidade estomática de *L. racemosa* do que a radiação solar.

As glândulas de sal presentes nas folhas de algumas espécies de mangue são estruturas adaptativas que conferem tolerância à salinidade (Sobrado, 2004) e sua secreção varia entre as espécies (Ye et al., 2005). No presente trabalho, foi constatado que os indivíduos de *A. schaueriana* e *L. racemosa* localizados na área de manguezal de maior salinidade (Conceição da Barra) apresentaram maior densidade de glândulas de sal na face adaxial. Estes resultados corroboram outros estudos que relatam que indivíduos sujeitos à maior salinidade exibem maior densidade de glândulas, quando comparadas aqueles de ambientes menos salinos (Barhoumi et al., 2007; Marcum, 2006). A maior tolerância à salinidade de *A. schaueriana* em relação à *L. racemosa* (Fernandes e Peria, 1995; Sobrado e Ewe, 2006) possivelmente está relacionada ao aumento expressivo do número de glândulas de sal exibido pela primeira espécie.

De um modo geral, as espécies ocorrentes em Conceição da Barra apresentaram menor área foliar e maior massa foliar específica, ao passo que os indivíduos localizados no Canal da Passagem exibiram maior área foliar e menor massa foliar específica. A diminuição da área foliar em espécies de mangue como resposta à maior incidência luminosa ou salinidade tem sido relatada por diferentes autores (Farnsworth e Ellison, 1996; Parida et al., 2004; Sobrado, 2007; Suárez e Medina, 2006), sendo de grande importância num ambiente fisiologicamente seco, pois diminui a superfície de transpiração (Taiz e Zeiger, 2009). Para *L. racemosa*, a salinidade parece exercer maior influência na área foliar, visto que indivíduos com área foliar maior ocorriam no local de menor salinidade (Ilha do Lameirão).

Com relação à massa seca específica, de um modo geral, os maiores valores observados nas espécies localizadas em Conceição da Barra deve-se ao aumento em espessura dos tecidos foliares, principalmente, do parênquima paliçádico e aquíífero.

Os resultados obtidos neste estudo demonstram a plasticidade morfoanatômica foliar de *Avicennia schaueriana*, *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn. Stapft & Leechm e *Rhizophora mangle* L. às diferentes condições ambientais a que essas espécies estavam expostas, sobretudo de salinidade e radiação solar, evidenciando o valor adaptativo dos caracteres avaliados.

#### **AGRADECIMENTOS**

Ao Fundo de Apoio à Ciência e Tecnologia do Município de Vitória (FACITEC) pela bolsa de mestrado fornecida à primeira autora (proc. 3310/2009). Ao Dr. Roberto Antonio Rodella, da Universidade Estadual Paulista – UNESP, câmpus de Botucatu, pelo auxílio na análise estatística de agrupamento.

## REFERÊNCIAS

- Abreu, M.F., Andrade, J.C., Falcão, A.A., 2006. Protocolos de análises químicas. In: Andrade, J.C., Abreu, M.F. (Org.). Análise química de resíduos sólidos para monitoramento e estudos agroambientais. IAC, Campinas, pp.121-158.
- Ball, M.C., 1998. Mangrove species richness in relation to salinity and waterlogging: a case study along the Adelaide River floodplain, northern Australia. *Global Ecology and Biogeography Letters* 7, 73-82.
- Barhoumi, Z., Djebali, W., Smaoui, A., Chaïbi, W., Abdelly, C., (2007) Contribution of NaCl excretion to salt resistance of *Aeluropus littoralis* (Willd) Parl. *J. Plant Physiol.* 164, 842-850.
- Camilleri, J.C., Ribí, G., 1983. Leaf Thickness of mangroves (*Rhizophora mangle*) growing in different salinities. *Biotropica* 15, 139-141.
- Cepemar, 2004. Plano de manejo do Parque Estadual de Itaúnas. Vitória: Cepemar/Petrobras. Relatório técnico (Encarte 04: meio biótico).
- Chazdon R.L., Kaufmann, S., 1993. Plasticity of leaf anatomy of two rain forest shrubs in relation to photosynthetic light acclimation. *Functional Ecology* 7, 385-394.
- Clough, B.F., Andrew, T.J., Cowan, I.R., 1982. Physiological processes in mangroves. In: Clough, B.F. (Ed.) *Mangrove ecosystems in Australia. Structure function and management.* Australian National, Canberra, pp 193–210.
- Cram, W.J., Torr, P.G., Rose, D.A., 2002. Salt allocation and leaf development and leaf fall in mangroves. *Trees* 16, 112–119.
- Das, S., 1999. An adaptative feature of some mangroves of Sundarbans, West Bengal. *Journal of Plant Biology.* 42, 109-116.

- Dodd, R.S., Blasco, F., Rafii, Z.A., Torquebiau, E., 1999. Mangroves of the United Arab Emirates: ecotypic diversity in cuticular waxes at the bioclimatic extreme. *Aquatic Botany* 63, 291-304.
- Ellison, A.M., Farnsworth, E.J., 1997. Simulated sea level change alters anatomy, physiology, growth, and reproduction of red mangrove (*Rhizophora mangle* L.) *Oecologia* 112, 435-446.
- Embrapa, 1997. Manual de métodos de análise de solo. EMBRAPA - Centro Nacional de Pesquisa de Solo, Rio de Janeiro.
- Evans, L.S., Bromberg, A., 2010. Characterization of cork warts and aerenchyma in leaves of *Rhizophora mangle* and *Rhizophora racemosa*. *The Journal of the Torrey Botanical Society*, 137, 30-38.
- Evans, L.S., Okawa, Y., Searcy, D.G., 2005. Anatomy and morphology of red mangrove (*Rhizophora mangle*) plants in relation to internal airflow. *Journal of the Torrey Botanical Society* 132, 537-550.
- Farnsworth, E.J., Ellison, A.M., 1996. Sun-shade adaptability of the red mangrove *Rhizophora mangle* (Rhizophoraceae): changes through ontogeny at several levels of biological organization. *American Journal of Botany* 83, 1131-1143.
- Farnsworth, E.J., Ellison, A.M., Gong, W.K., 1996. Elevated CO<sub>2</sub> alters anatomy, physiology, growth, and reproduction of red mangrove (*Rhizophora mangle* L.). *Oecologia* 108, 599-609.
- Feller, I.C., 1996. Effects of Nutrient Enrichment on Leaf Anatomy of Dwarf *Rhizophora mangle* L. (Red Mangrove). *Biotropica* 28, 13-22.
- Fernandes, A.J., Peria, L.C.S., 1995. Características do ambiente. In: Yara Schaeffer-Novelli (Ed.), *Manguezal: Ecossistema entre a terra e o mar*. Caribbean ecological research, São Paulo. pp.13-15.

- Francisco, A.M., Díaz, M., Romano, M., Sánchez, F., 2009. Descripción morfoanatomica de los tipos de glándulas foliares en el mangle blanco *Laguncularia racemosa* L. Gaertn (f.). *Acta Microscopica* 18, 237-252.
- Gerrits, P.O., 1964. The application of glycol metacrylate histotechnology: some fundamental principles. Leica GmbH, Germany.
- György, E., 2009. Anatomic Adaptive Strategies of some *Cormophytes* with Individuals Growing in Light and Shade Conditions. *Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj* 37, 33-39.
- Hwang, Y-H., Chen S-C., 1995. Salt tolerance in seedlings of the mangrove *Kandelia candel* (L.) Druce, Rhizophoraceae. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 36, 25-31.
- Jesus, H.C., Santana, E.J., Belo, M.J., Silva, L.B., Ceotto, C.S., Castro Neves, D.M., Castro, L.B., 2009. Avaliação da poluição ambiental dos rios Piraquê-açu e Piraquê-mirim (Santa Cruz – ES) através da análise de águas, biomonitorios e sedimentos. Relatório Técnico- Projeto Aracruz Celulose, Processo UFES nº 034373/2007-80.
- Johansen, D.A., 1940. Plant microtechnique. McGraw-Hill Co., New York.
- Kjerfve, B., Lacerda, L.D., 1993. Mangroves of Brazil. In: Lacerda L.D. (Ed.), Conservation and sustainable utilization of mangrove forest in Latin America and Africa regions. I. Latin America, Mangrove Ecosystem Technical Report No. 2. ITTO/ISME, Okinawa, pp.245-272.
- Köppen, W, 1948. Climatologia: con un studio de los climas de la tierra. Fondo de Cultura Económica, México.
- Larcher, L. 2004. Ecofisiologia Vegetal. Rima, São Carlos.
- Marcum, K.B., 2006. Use of saline and non-potable water in the turfgrass industry: Constraints and developments. *Agricultural Water Management* 80, 132–146.

- Marques, A.R., Garcia, Q.S., Fernandes, G. W., 1999. Effects of sun and shade on leaf structure and sclerophylly of *Sebastiania myrtilloides* (Euphorbiaceae) From Serra do Cipó, Minas Gerais, Brazil. *BoI. Bot. Univ. São Paulo* 18, 21-27.
- Marques, A.R., Garcia, Q.S., Rezende, J.L.P., Fernandes, G. W., 2000. Variations in leaf characteristics of two species of *Miconia* in the Brazilian cerrado under different light intensities *Tropical Ecology* 41, 47-60.
- Martins, M.B.G., Moreira, V.L., 2007. Caracterização Histológica das folhas de *Avicennia schaueriana* Stapf & Leechman (Avicenniaceae). *Revista Fafibe* 3, 1-8.
- Menezes, N.L., 2006. Rhizophores in *Rhizophora mangle* L: an alternative interpretation of so-called "aerial roots". *An. Acad. Bras. Ciênc.* 78, 213-226.
- Mott, K.A., Michaelson O., 1991. Amphistomy as an adaptation to high light intensity in *Ambrosia cordifolia* (Compositae). *American Journal of Botany* 78(1): 76-79.
- Nandy (Datta), P., Das, S., Ghose, M., 2005. Relation of leaf micromorphology with photosynthesis and water efflux in some Indian mangroves. *Acta Bot. Croat.* 64, 331-340.
- Nandy (Datta), P., Das, S., Ghose, M., Spooner-Hart, R., 2007. Effects of salinity on photosynthesis, leaf anatomy, ion accumulation and photosynthetic nitrogen use efficiency in five Indian mangroves. *Wetlands Ecol Manage* 15, 347-357.
- O'Brien, T.P., Feder, N., McCully, M.E., 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by Toluidine blue O. *Protoplasma* 59, 368-373.
- Parida, A.K., Das, A.B., Mitra, B., 2004. Effects of salt on growth, ion accumulation photosynthesis and leaf anatomy of the mangrove, *Bruguiera parviflora*. *Trees Struct Funct* 18, 167-174.
- Parida, A.K., Das, A.B., Mitra, B., 2004. Effects of salt on growth, ion accumulation, photosynthesis and leaf anatomy of the mangrove, *Bruguiera parviflora*. *Trees* 18, 167-174.



- Pearce, D.W., Millard, S., Bray, D.F., Rood, S.B., 2005. Stomatal characteristics of riparian poplar species in a semi-arid environment. *Tree Physiology* 26, 211–218.
- Rossatto, D.R., Kolb, R.M., 2010. *Gochnatia polymorpha* (Less.) Cabrera (Asteraceae) changes in leaf structure due to differences in light and edaphic conditions. *Acta bot. bras.* 24, 605-612.
- Scholander, P.F., Hammel, H.T, Hemmingson, E.A., Garey, W., 1962. Salt balance in mangroves. *Pl. Physiol.* 37, 722-729.
- Serret, M.D., Trillas, M.I., 2000. Effects of light and sucrose levels on the anatomy, ultrastructure, and photosynthesis of *Gardenia jasminoides* Ellis leaflets cultured *in vitro*. *Int. J. Plant Sci.* 161(2):281–289.
- Smith, W.K, Bell, D.T., Shepherd, K.A., 1998. Associations between leaf structure, orientation, and sunlight exposure in five western Australian communities. *American Journal of Botany* 85, 56–63.
- Sobrado, M.A., 2004. Influence of external salinity on the osmolality of xylem sap, leaf tissue and leaf gland secretion of the mangrove *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn. *Trees* 18, 422–427.
- Sobrado, M.A., 2005. Leaf characteristics and gas exchange of the mangrove *Laguncularia racemosa* as affected by salinity. *Photosynthetica* 43, 217-221.
- Sobrado, M.A., 2007. Relationship of water transport to anatomical features in the mangrove *Laguncularia racemosa* grown under contrasting salinities. *New Phytologist* 173, 584–591.
- Sobrado, M.A., Ewe, S.M.L., 2006. Ecophysiological characteristics of *Avicennia germinans* and *Laguncularia racemosa* coexisting in a scrub mangrove forest at the Indian River Lagoon, Florida. *Trees* 20, 679–687.

- Solovchenko, A., Merzlyak, M., 2003. Optical properties and contribution of cuticle to UV protection in plants: experiments with apple fruit. *Photochem. Photobiol. Sci.* 2, 861–866.
- Suárez, N., Medina, E., 2006. Influence of salinity on Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> accumulation, and gas exchange in *Avicennia germinans*. *Photosynthetica* 44, 268-274.
- Suárez, N., Sobrado, M.A., 2000. Adjustments in leaf water relations of mangrove (*Avicennia germinans*) seedlings grown in a salinity gradient. *Tree Physiol.* 20, 277–282.
- Taiz, L., Zeiger, E., 2009. *Fisiologia vegetal*. 4ed. Artmed, Porto Alegre.
- Tomlinson, P.B., 1986. *The botany of mangroves*. Cambridge University Press, New York.
- Tomlinson, P.B., Cox, P. A., 2000. Systematic and functional anatomy of seedlings in mangrove Rhizophoraceae: vivipary explained? *Bot. J. Linn. Soc.* 134, 215-231.
- Tüffers, A.V., Naidoo, G., Willert, D.J.V., 1999. The contribution of leaf angle to photoprotection in the mangroves *Avicennia marina* (FORSSK.) VIERH. and *Bruguiera gymnorhiza* (L.) LAM. under field conditions in South Africa. *Flora* 194, 267-275.
- Werner, A., Stelzer, R., 1990. Physiological responses of the mangrove *Rhizophora mangle* grown in the absence and presence of NaCl. *Plant, Cell and Environment* 13, 243-255.
- Ye, Y., Tam N. F-Y., Lu, C-Y., Wong, Y-S., 2005. Effects of salinity on germination, seedling growth and physiology of three salt-secreting mangrove species *Aquatic Botany* 83, 193–205.
- Yokoya, N.S., 1995. Distribuição e origem. In: Yara Schaeffer-Novelli (Ed.), *Manguezal: Ecossistema entre a terra e o mar*. Caribbean ecological research, São Paulo. pp. 9-12.
- Yuanyue, L., Zhongbao, L., Peng, L., 2009. The Study on the Leaf Anatomy of Some Mangrove Species of CHINA. *International Conference on Environmental Science and Information Application Technology*.

**TABELAS**

**TABELAS**

**TABELAS**

**TABELAS**

**TABELAS**

**TABELAS**



**TABELAS**

**TABELAS**

**TABELAS**

## LEGENDA DAS FIGURAS

Figura 1. Mapa do Brasil e do Espírito Santo com a localização das áreas de amostragem deste estudo. (AR = Aracruz; CA = Cariacica; CB = Conceição da Barra; CP = Canal da Passagem; IL = Ilha do Lameirão).

Figura 2. Secções transversais do limbo de *Avicennia schaueriana* (A e B), *Laguncularia racemosa* (C e D) e *Rhizophora mangle* (E e F) coletadas nas áreas de manguezal localizadas no Canal da Passagem (A e E), na Ilha do Lameirão (C) e em Conceição da Barra (B, D e F). (Eab = epiderme da face abaxial; Ead = epiderme da face adaxial; Pa = parênquima aquífero; Pab = parênquima paliçádico da face abaxial; Pad = parênquima paliçádico da face adaxial; Pl = parênquima lacunoso; Pp = parênquima paliçádico). As setas indicam os estômatos. Barras = 50  $\mu\text{m}$  (A,B,E e F) e 100  $\mu\text{m}$  (C e D).

Figura 3. Dendograma resultante da análise de agrupamento dos 15 caracteres quantitativos do limbo de *Avicennia schaueriana* em cinco áreas de manguezal.

Figura 4. Dendograma resultante da análise de agrupamento dos 16 caracteres quantitativos do limbo de *Laguncularia racemosa* em cinco áreas de manguezal.

Figura 5. Dendograma resultante da análise de agrupamento dos 13 caracteres quantitativos do limbo de *Rhizophora mangle* em cinco áreas de manguezal.

## FIGURAS

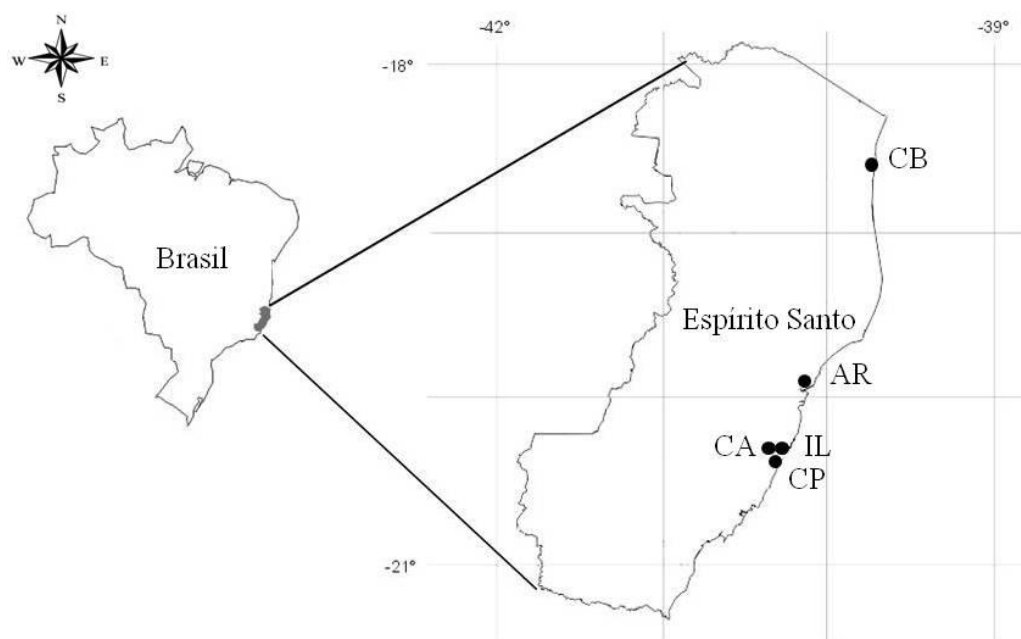


Figura 1

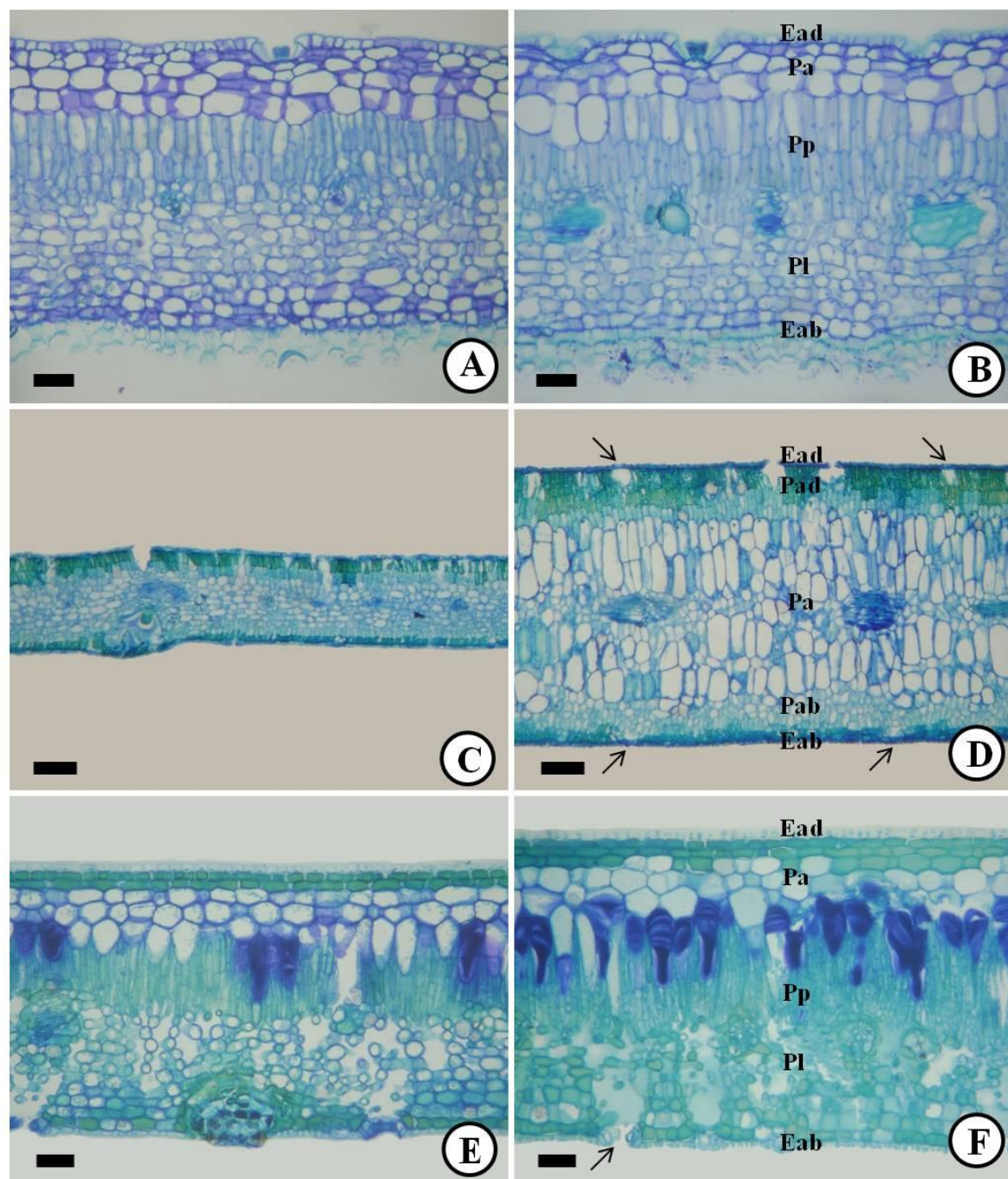


Figura 2

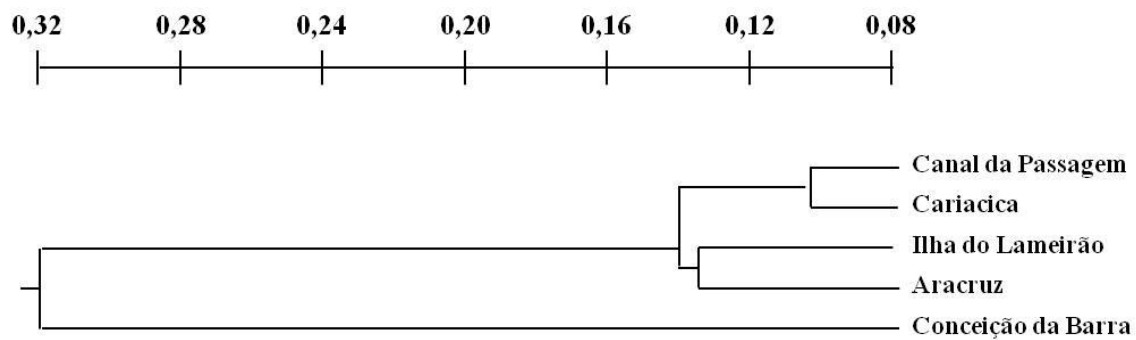


Figura 3

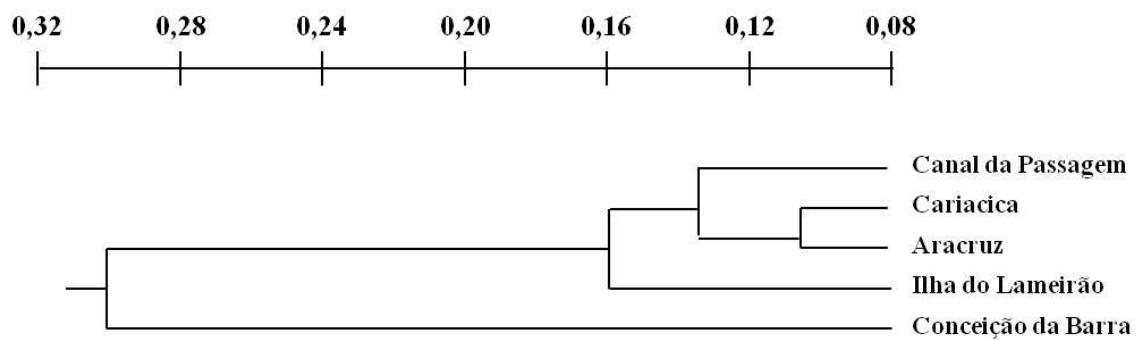


Figura 4

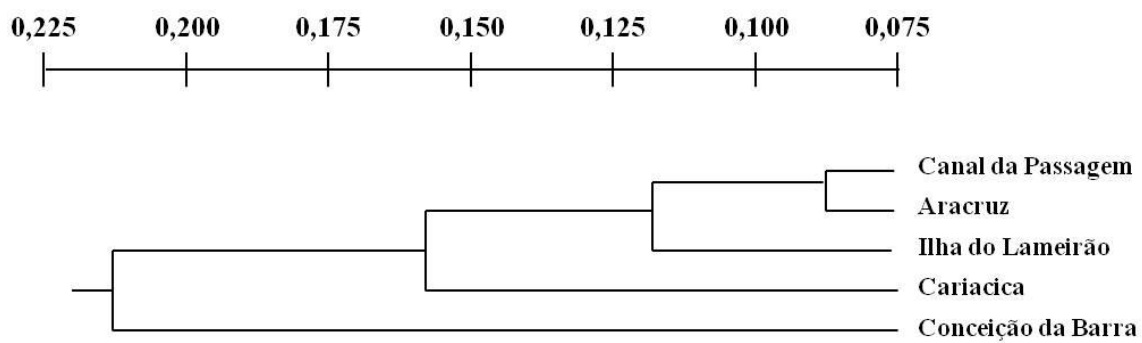


Figura 5

## 8. CONCLUSÕES GERAIS

A plasticidade morfoanatômica foliar de *A. schaueriana*, *L. racemosa* e *R. mangle* sofre maior influência das condições de salinidade e luminosidade de cada área de manguezal.

A deposição de material particulado na superfície foliar e os teores de ferro no sedimento exercem pouca influência sobre a estrutura foliar das espécies estudadas.

A maior deposição de material particulado em *A. schaueriana* e *L. racemosa* em relação à *R. mangle* ocorre em virtude das particularidades morfológicas na superfície foliar de cada espécie.

É provável a absorção foliar de ferro em indivíduos de *A. schaueriana* e *L. racemosa* localizados em áreas mais expostas ao ferro particulado.

Em geral, *A. schaueriana* e *L. racemosa*, espécies sal-secretoras, mostraram maior teor de ferro foliar em relação à *R. mangle*.

Foi constatada a eliminação de ferro pelas glândulas de sal presentes em folhas de *A. schaueriana* e *L. racemosa*, constituindo o primeiro relato da eliminação desse metal nas referidas espécies.

*A. schaueriana*, *L. racemosa* e *R. mangle* não se mostraram boas bioindicadoras de reação e de acumulação da poluição por ferro particulado.