

Caracterização anatômica e perfil químico da lâmina foliar de *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn, de manguezais impactados e não impactados do litoral de São Paulo

João Marcelo Silva¹, Maria Bernadete Gonçalves Martins² & Alberto José Cavalheiro³

¹Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ/USP, Av. Pádua Dias, 11, 13418-900, CP 9, Piracicaba, SP, Brasil. joamarcosilva@yahoo.com.br

²Universidade Estadual Paulista – UNESP Campus Experimental do Litoral Paulista, Praça Infante Dom Henrique, s/n, 11330-900, São Vicente, SP, Brasil. bernadete@clp.unesp.br

³Universidade Estadual Paulista – UNESP Instituto de Química, R. Francisco Degni, s/n, 14800-900, Araraquara, SP, Brasil. albjcava@iq.unesp.br

Recebido em 20.VIII.2009. Aceito em 13.X.2010.

RESUMO – As diversas fontes de impacto ambiental têm causado grandes danos à flora dos manguezais. Neste contexto, o estudo analisou a anatomia e a composição química de lâminas foliares de *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn, de manguezal impactado (município de Santos) e não impactado (município de Peruíbe) do litoral de São Paulo. Para a análise anatômica, utilizou-se de microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura (MEV). Para a análise química, utilizou-se de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Na biometria tecidual, as folhas do manguezal impactado apresentaram menor espessura epidérmica nas duas faces foliares, no mesófilo e maior largura do feixe vascular central. Ainda, foram observadas menores quantidades de estômatos e maiores quantidades de drusas. Tais resultados foram confirmados pelo teste t-Student ($\alpha = 5\%$). Os perfis cromatográficos revelaram maior volume de metabólitos secundários produzidos por folhas do ambiente não impactado.

Palavras chaves: anatomia foliar, impacto ambiental, Santos, Peruíbe

ABSTRACT – **Anatomical characterization and chemical profile of *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn leaf blades, from impacted and non-impacted mangroves of the São Paulo Coast.** Several sources of environmental impact have caused great damage to the flora in mangroves. Therefore, this study aimed to analyze the anatomy and chemical composition of *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn leaf blades, from impacted (Municipality of Santos) and non-impacted mangroves (Municipality of Peruíbe) of the São Paulo Coast. For the leaf anatomy studies, light microscopy and scanning electron microscopy (SEM) were used. For chemical analysis, high performance liquid chromatography (HPLC) was conducted. The biometry revealed leaf tissues of plants from impacted mangroves with a less thick epidermis and mesophyll and higher width of the central vascular beam. A smaller number of stomata and higher amounts of druses in these leaves were also observed. Results were confirmed by the Student t-test ($\alpha = 5\%$). The chemical profiles revealed a higher amount of secondary metabolites in leaves from the impacted environment.

Key words: leaf anatomy, environmental impact, Santos, Peruíbe

INTRODUÇÃO

Laguncularia racemosa (L.) Gaertn (*Combretaceae*), conhecida como mangue branco, manso ou tinteira, é uma árvore relativamente pequena, cujas folhas têm pecíolo vermelho com duas glândulas em sua parte superior, próximas à lamina foliar. As folhas são espessas e variam de elíptica a oblonga, apresentando margem lisa.

Em plantas de mangue, a escleromorfia foliar está relacionada à elevada salinidade (Camilleri & Ribi, 1983). O sistema radicular é menos desenvolvido com relação às outras espécies de mangue, tanto em número quanto em altura de pneumatóforos, quando presentes. A planta adulta produz grande quantidade de propágulos, que formam cachos (racemos) pendentes nas partes terminais dos galhos (Sugiyama, 1995).

Este tipo de mangue está tipicamente restrito às franjas dos manguezais e é conhecido por ser pioneiro em áreas com condições favoráveis, formando longas porções (Tomlinson, 1986).

As folhas correspondem à maior parte da produção primária no ecossistema de manguezal e são as principais constituintes da serrapilheira (Twilley *et al.*, 1986; Clough *et al.*, 2000), compondo o recurso alimentar de insetos e caranguejos arborícolas. Portanto, as plantas apresentam uma série de defesas contra a herbivoria, destacando-se a síntese de metabólitos secundários. Dentre esses, temos os polifenóis, constituídos principalmente por taninos condensados e outros fenóis com atividade adstringente (Kandil *et al.*, 2004).

As áreas naturais do estuário do município de Peruíbe, situado ao sul do litoral paulista, apresentam um excelente estado de conservação. Isto porque na cidade, está localizada parte da Estação Ecológica de Juréia-Itatins, uma unidade de conservação que tem por objetivo promover o desenvolvimento sustentável através da preservação e exploração dos recursos naturais, conforme normas específicas previstas pelo Sistema Nacional de Unidades de Conservação - SNUC (SNUC, 2000).

Já o estuário de Santos, localizado no centro do litoral paulista, é conhecido por abrigar o maior porto da América Latina, bem como por fornecer acesso ao maior polo industrial do país, no município de Cubatão. O fenômeno do crescimento urbano, acompanhado pelas ocupações irregulares e pelo desenvolvimento do setor industrial a partir da década de 1950, resultou na geração de múltiplas fontes de contaminação do estuário, dentre elas, o esgoto doméstico dos bairros Cota, no Parque Estadual da Serra do Mar e das palafitas sobre o manguezal (áreas protegidas por lei ambiental).

Segundo relatório divulgado pela Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo—CETESB (Lamparelli *et al.*, 2001), os aterros sanitários e principalmente os lixões são considerados fontes de alto risco, contribuindo com a contaminação do sistema estuarino. Ainda, a precipitação de poluentes atmosféricos gerados nas indústrias da Baixada Santista e os passivos ambientais representados pelos aterros irregulares, pelas antigas áreas de deposição de sedimentos dragados do canal do porto e pelos contaminantes originados do bombeamento de água para a usina de Henry Borden (município de Cubatão), constituem grande fonte de impacto ao meio ambiente (Perina, 2006).

Apesar do esforço para o controle da poluição e melhoria da qualidade ambiental, um levantamento da contaminação dos rios Cubatão, Perequê, Piaçaguera e Casqueiro (ambos pertencentes ao estuário santista), realizado após a implantação do programa de controle da poluição, concluiu que a região permanecia impactada por concentrações elevadas de metais pesados e compostos organoclorados na água, nos sedimentos e nos organismos aquáticos (Vargas - Boldrini *et al.*, 1991). Levantamentos realizados em 1997 e 1998 revelaram a persistência de poluentes nos sedimentos dragados dos canais portuários, que coloca em risco a saúde pública e o equilíbrio ecológico da região (Prosperi *et al.*, 1999). Abessa (2002) demonstrou que os níveis de alguns contaminantes em sedimentos da área interna do estuário continuam aumentando, a despeito da diminuição da descarga industrial declarada, o que aponta para a emissão clandestina de poluentes.

Muitas espécies de plantas são conhecidas por apresentarem alterações no desenvolvimento, quando submetidas à concentrações elevadas de poluentes químicos. Kurczynska *et al.* (1997) detectaram diminuição no número de células do câmbio e do floema, bem como o surgimento de falsos anéis nas traqueídes do caule de *Pinus silvestres* L., situadas em áreas com altas taxas de metais pesados na atmosfera. Fortes (2003) avaliou teores de flúor em folhas de milho (*Zea mays* L.), registrando sintomas que evoluíam de descoloração do limbo foliar a dessecamento marginal das folhas. Ortega-Vilasante *et al.* (2005) descobriram danos celulares e de crescimento induzidos por cádmio e mercúrio, em plantas de alfafa (*Medicago sativa* L.).

Por outro lado, Defew *et al.* (2005) encontraram altos níveis de elementos metálicos (Mn, Cu, Zn, Ni, Pb, Fe, Cr, Cd) no manguezal da baía de Punta Mala, Panamá, e observaram que o acúmulo de metais pesados no ambiente não causou impacto aparente na planta de *L. racemosa*, sendo notável a presença de grandes quantidades de propágulos e mudas. Ramos e Silva *et al.* (2006) quantificaram oito elementos metálicos (Fe, Zn, Cr, Cu, Cd, Pb, Ni e Al) em floresta de mangue vermelho *Rhizophora mangle* (L.) do estuário do rio Potengi, Natal, Brasil, e encontraram as menores concentrações nas folhas desta espécie, levando-os a afirmar que florestas de mangue são importantes filtros bioquímicos ao transporte de metais pesados às áreas costeiras, já que estes elementos estariam acumulados nos órgãos perenes (ramos, trocos e raízes).

Os compostos organoclorados, comumente encontrados em pesticidas, são conhecidos por sua alta resiliência no ambiente, principalmente quando dispersos no sedimento e na água. Segundo Marco & Kishimba (2006), as partes verdes (folhas e pecíolos) de plantas superiores são cobertas por cera epicuticular hidrofóbica e, portanto, absorvem componentes hidrofóbicos, como pesticidas organoclorados, da atmosfera. Já as raízes, o fazem através do solo. Assim, a presença destes compostos nas folhas de *L. racemosa* pode representar um grande risco à fauna envolvida, configurando também um problema de saúde pública (Prosperi *et al.* 1999).

Neste contexto, o presente estudo teve por objetivos: caracterizar a anatomia e apresentar perfis cromatográficos da lamina foliar adulta de *L. racemosa* de manguezal impactado e não impactado; comparar características anatômicas e químicas, investigando alterações possivelmente provocadas por fontes de impacto ambiental.

MATERIAL E MÉTODOS

Áreas de Amostragem

A terceira folha adulta, do terceiro ramo e em seu terceiro nó (partindo do ápice), foi coletada de cada

um dos vinte indivíduos de *L. racemosa*, à uma altura de 1,50 m, em área de bosque completamente exposta à incidência solar. As coletas foram realizadas no mês de maio. A amostragem da área impactada se deu à margem direita do rio Piaçaguera (estuário de Santos/SP), sob as coordenadas: 23°54'24.22" S e 46°22'44.06" W (Fig. 1); e da área não impactada, à margem direita do Rio Una (estuário de Peruíbe/SP), sob as coordenadas: 24°25'56.14"S e 47° 4'26.98"W (Fig. 2).

Microscopia de luz

O material coletado foi fixado em solução de FAA 70 (formalina, ácido acético, álcool etílico 70%). Foram realizadas secções paradérmicas e transversais, das lâminas foliares, na porção mediana e da nervura central. As secções paradérmicas foram clarificadas em solução de hipoclorito de sódio 5 %, e montadas com glicerina (Kaiser, 1880). Já as secções transversais, passaram por processos usuais de microtomia: desidratação em série etílica, infiltração em resina sintética Leica (hidroxietilmetacrilato), emblocamento, seccionamento em micrótomo rotativo (5 µm de espessura), coloração com azul de toluidina 1 % com borato de sódio 1 % em 100 ml de água destilada (Gerrits, 1991) e montagem em resina sintética "Entellan" (lâminas permanentes).



Fig. 1. Estuário município de Santos, São Paulo. * Ponto de coleta em manguezal impactado.



Fig. 2. Estuário do município de Peruíbe, São Paulo. * Ponto de coleta em manguezal não impactado.

Microscopia eletrônica de varredura

As folhas foram fixadas durante uma noite, sob vácuo, em solução de Karnovsky modificada (paraformaldeído 4 %, glutaraldeído 0,5 %, em tampão cacodilato de sódio, pH 7,2, 0,1 M e água destilada) (Karnovsky, 1965). No dia seguinte, foram realizadas lavagens com cacodilato 0,05 M e pós-fixação com tetróxido de ósmio (OsO_4), por uma hora. O material foi desidratado com acetona, seco até o ponto crítico e então, metalizado (Danilatos, 1998). A análise foi realizada em Microscópio Eletrônico de Varredura ZEISS DSM 940A.

Captura de Imagens, Biometria e Análises Estatísticas

Após a confecção das lâminas, obtiveram-se as imagens por meio de captador acoplado a microscópio de luz LEICA DMLB. As imagens foram digitalizadas através do programa IM50 (LEICA) e utilizadas na composição das pranchas ilustrativas. Para a aferição das espessuras teciduais e contagem de estruturas foliares, utilizou-se do programa KS 100, versão 3.0 (ZEISS). Foram aferidas as alturas da epiderme nas faces adaxial e abaxial, do parênquima paliádico, parênquima esponjoso, largura do feixe vascular central e altura do mesofilo. Quanto às análises quantitativas, foi registrada a quantidade de

drusas (no mesofilo), de estômatos e de glândulas de sal por mm^2 .

Foram realizadas entre dezoito e vinte medições e contagens totais para cada ambiente, valor próximo ao encontrado em literatura relacionada à morfometria foliar (Martins, 1989; Aranda *et al.*, 2004). O teste “W”, de Shapiro-Wilkes, confirmou a normalidade das médias, que foram então submetidas às comparações através do teste de hipótese t-Student, com 5% de significância. Pacote estatístico utilizado: STATISTICA 7.0 (STATSOFT).

Perfis cromatográficos

Foram adicionados 2 mL de metanol à cerca de 100 mg de material vegetal seco e moído, pesado em balança analítica. A extração foi realizada por sonicação, em banho de ultra-som da Elma Transsonic 700. Em seguida, a amostra foi submetida à centrifuga de bancada Celm Combatea, a 500 G, para sedimentação do resíduo sólido. Uma alíquota de 1 mL do sobrenadante foi filtrada em membrana 0,22 μm e acondicionada em frascos apropriados.

As amostras foram analisadas em CLAE-DAD (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência - Varian ProStar), com sistema de bombeamento mod. 230, amostrador automático mod. 410 e detector UV/VIS, com arranjo de diodos mod. 330), utilizando-se de

coluna Phenomenex Luna (C18 250 x 4,6 mm, 5 μ m, volume de injeção de 20 μ L), acetonitrila (ACN) e água com 0,1 % de ácido acético, como fases móveis. As condições de eluição estão indicadas na tabela 1.

TABELA 1 – Condições de eluição utilizadas em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

Tempo (min.)	Água (%)	ACN (%)	Fluxo (mL/min.)
0	5	95	1,0
40	0	100	1,0
40	0	100	2,0
60	0	100	2,0

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Morfologia e Anatomia

A folha é dorsiventral e anfiestomática, com estômatos anomocíticos e tricomas tectores (Fig. 3), como observado por Silva & Valente (1980). O depósito de grânulos de cera epicuticular é abundante sobre a epiderme de folhas de *L. racemosa* de ambos os manguezais.

Glândulas de sal estão distribuídas em ambas as faces da folha (Fig. 4, 5. C, E, F). Estas glândulas foram descritas por Tomlinson (1986) como “um grupo de

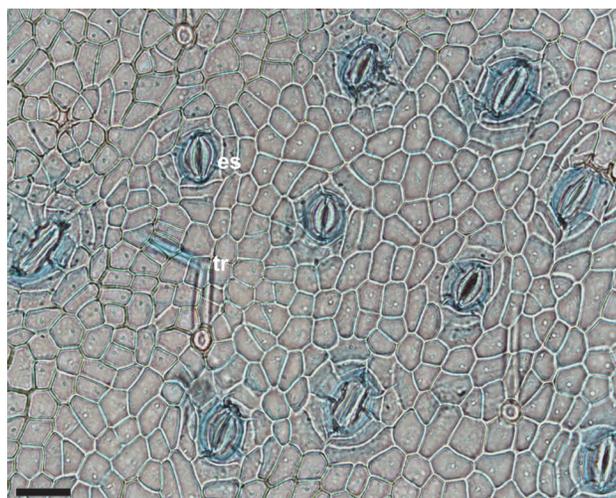


Fig. 3. Vista frontal da epiderme na face abaxial da folha de *L. racemosa*, de manguezal não impactado (es. estômato; tr. tricoma). Barra = 30 μ m.

células com citoplasma denso, na base de uma profunda e irregular depressão epidermal” e possuem função de secreção de sal (Scholander *et al.*, 1962; Sobrado, 2004). Não foram observadas diferenças nas quantidades de glândulas em folhas dos dois ambientes estudados (Fig. 6). Segundo Tomlinson (1986), as quantidades destas

estruturas podem variar, principalmente em função da salinidade do sedimento onde se encontram as plantas. A quantidade de glândulas de sal provavelmente está relacionada ao estresse salino sofrido pela planta, porém, ainda não há correlações evidentes entre estresse salino e seus efeitos na superfície foliar (Munns, 2002). Embora não se tenha analisado o teor de sais nos solos, acreditamos que as concentrações sejam semelhantes nos ambientes do estudo.

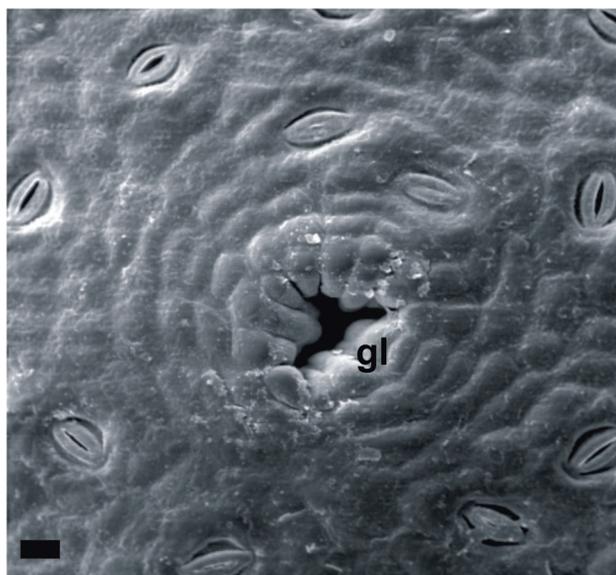


Fig. 4. Superfície foliar abaxial de *L. racemosa*, de manguezal impactado (gl. glândula de sal). Barra = 10 μ m

A quantidade de estômatos foi relativamente menor, em ambas as faces foliares de *L. racemosa* oriundas do manguezal impactado (Fig. 7). Aidar *et al.* (2002) registraram diminuição no número de estômatos em folhas de *Hymenaea courbaril* L. (*Leguminosae* – *Caesalpinioideae*) expostas a elevados níveis de dióxido de carbono, afirmando se tratar de uma estratégia para diminuir a passagem deste gás para o interior da planta. Alves *et al.* (2001) observaram redução no tamanho dos estômatos em folhas de *Tradescantia* L. (*Commelinaceae*) cultivada em centros urbanos. O estuário de Santos (área impactada) se encontra próximo ao maior pólo industrial do país (município de Cubatão) e é cercado pelos centros urbanos das cidades adjacentes (Santos, Cubatão e São Vicente), desta maneira, embora sem a coleta de dados, pode-se inferir que o nível de CO₂ nesta região é significativamente mais elevado que no estuário de Peruíbe (área não impactada). Consequentemente, acredita-se que a redução no número de estômatos segue a mesma tendência para diminuição da entrada do CO₂ na folha.

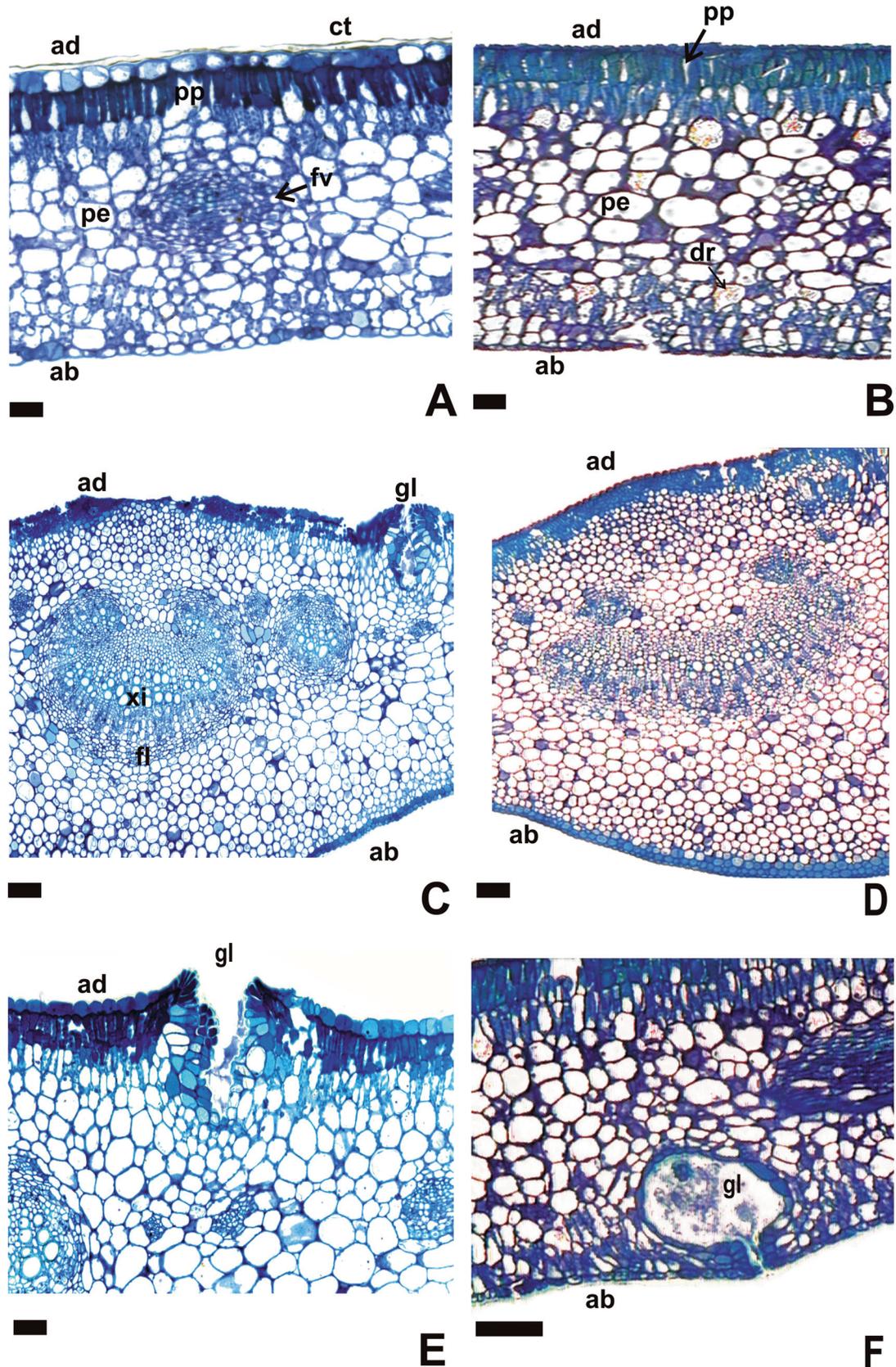


Fig. 5. A-F. Estrutura da folha adulta de *Laguncularia racemosa*, em secções transversais. A, C, E. manguezal impactado; B, D, F. manguezal não impactado. A, B, E, F. região mediana. C, D. nervura central (ad. face foliar adaxial; ab. face foliar abaxial; ct. cutícula; pp. parênquima paliçádico; pe. parênquima esponjoso; gl. glândula de sal; fv. feixe vascular; xi. xilema; fl. floema; dr. drusa). Barras = 10 μ m.

A epiderme é unisseriada e coberta por cutícula espessada (Fig. 5. A). A espessura deste tecido foi menor em plantas do ambiente impactado, em ambas as superfícies foliares. Laakso & Huttunen (1998), registraram aumento da espessura epidermal em folhas de coníferas submetidas à intensidades gradativamente maiores de radiação ultravioleta-B (UVB). A região metropolitana do município de Cubatão, área próxima ao manguezal impactado, apresentou índices de partículas totais em suspensão e de ozônio muito acima do Padrão Diário de Qualidade do Ar (PQAr), estabelecido pela CETESB (CETESB, 2007), o que pode ter diminuído a quantidade de radiação incidente nas folhas e consequentemente, a espessura da epiderme.

O mesofilo é constituído pelo parênquima paliçádico, com uma ou duas camadas de células, e pelo parênquima esponjoso, com dez a quatorze camadas de células, onde ocorrem drusas e cloroplastos, localizados na região subjacente à face abaxial (Fig. 5. A, B). O parênquima paliçádico e o parênquima esponjoso são menos espessos, nas folhas do manguezal impactado (Fig. 8). Alves *et al.* (2001) observaram a diminuição da espessura do parênquima paliçádico em folhas de *Tradescantia sp* sujeitas à poluição aérea em centros urbanos, e sugeriram que esta redução resulta da diminuição dos espaços intercelulares, com a finalidade de dificultar deslocamento dos poluentes no interior da folha. Isto é o que possivelmente também ocorre no clorênquima de *L. racemosa*. O mesofilo de folhas do manguezal impactado também foi, portanto, menos

espesso, refletindo a diminuição do clorênquima (Fig. 8).

A largura do feixe vascular central, da folha da área impactada, foi maior (Fig. 8). Castro *et al.* (2007) avaliaram a largura do feixe central de folhas de *Mikania glomerata* Springel (*Asteraceae*) expostas a diferentes níveis de sombreamento, e registraram variações correlacionadas com as diferentes taxas de radiação solar incidente. Visto que as folhas de *L. racemosa* do estudo foram coletadas em áreas com condições de luminosidade aparentemente idênticas, podemos atribuir de maneira indireta, como no caso da epiderme, o alargamento dos feixes da região impactada a uma redução da incidência de radiação solar, provavelmente bloqueada pelos poluentes acumulados na atmosfera local.

A quantidade de drusas por milímetro quadrado foi maior em folhas do manguezal impactado (Fig. 6). A maioria das plantas vasculares estoca algum tipo de material mineralizado, sendo a cristalização de oxalato de cálcio (drusa) a forma mais comum (Baran, 1995). Monje & Baran (2002) reviram as várias funções já atribuídas às drusas e observaram que estas vão desde regulação de pH intracelular e controle de íons de cálcio à percepção de gravidade, suporte mecânico e defesa contra herbivoria. Ruiz & Mansfield (1994) apresentaram evidências de que a deposição de oxalato de cálcio nas células da folha seria necessária para manter uma baixa concentração de cálcio nas adjacências das células-guarda dos estômatos, uma vez que este elemento é fundamental nos vários processos relacionados à abertura

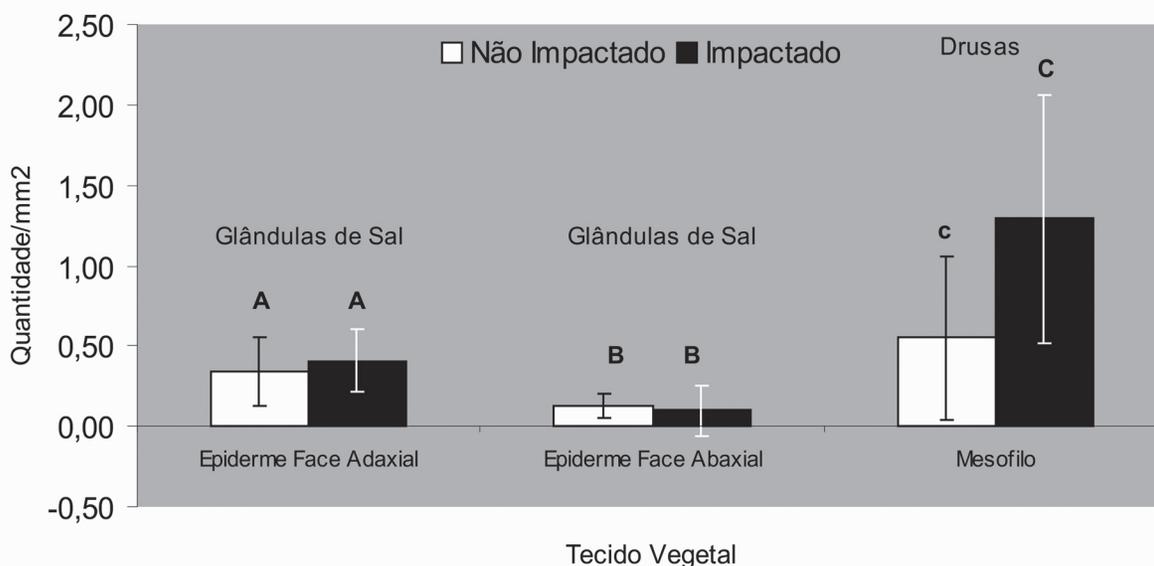


Fig. 6. Comparação entre médias e desvios padrão das espessuras teciduais de folhas de *L. racemosa*, provenientes de manguezal não impactado e impactado. Diferenças significativas estão representadas por letras diferentes ($p < 0,05$; t-Student).

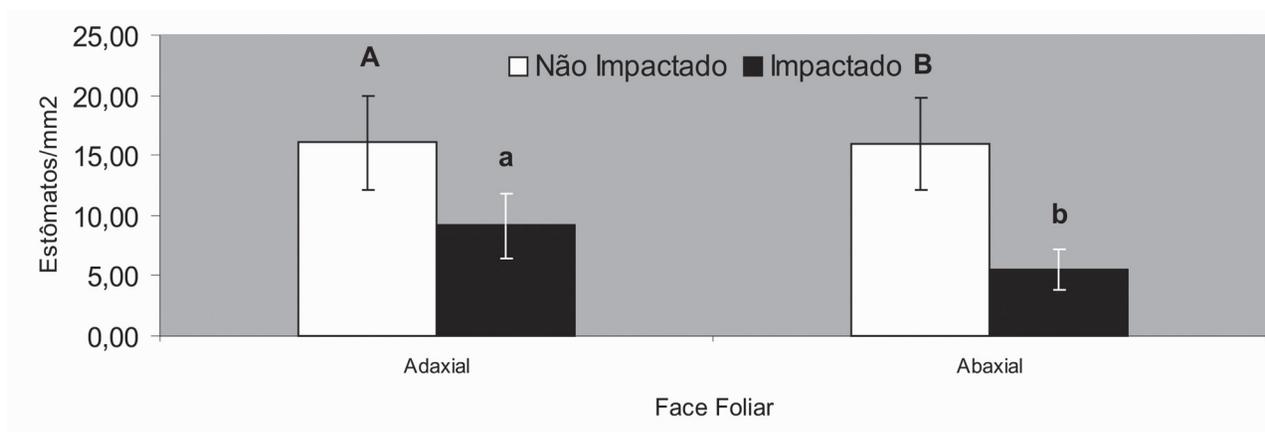


Fig. 7. Comparação entre médias e desvios padrão das quantidades de estômatos em folhas de *L. racemosa*, provenientes de manguezal não impactado e impactado. Diferenças significativas estão representadas por letras diferentes ($p < 0,05$; t-Student).

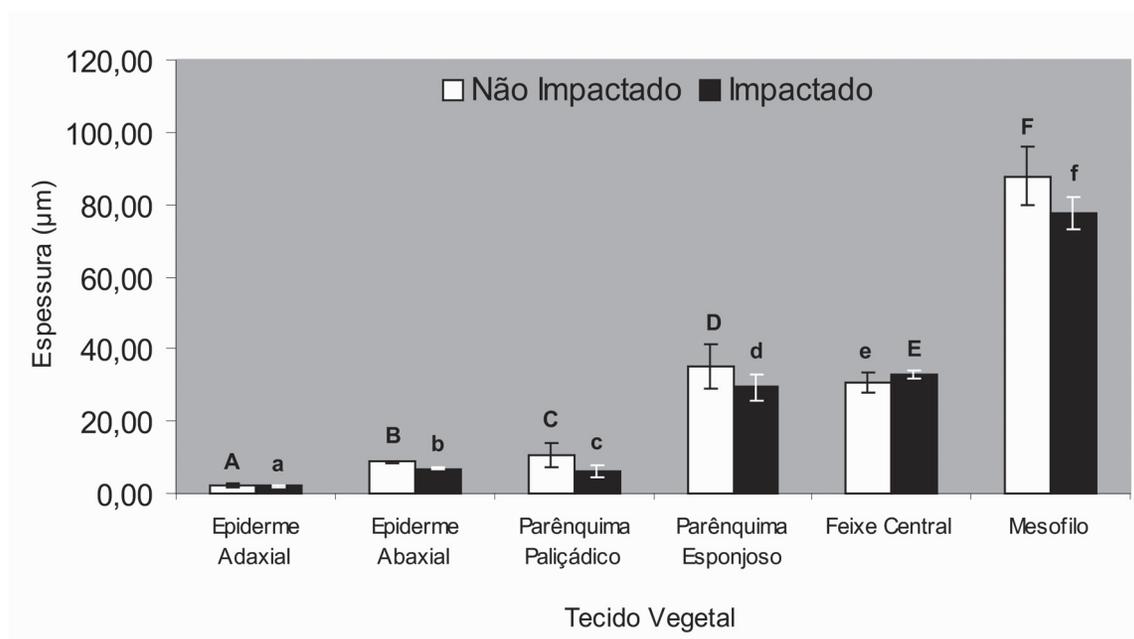


Fig. 8. Comparação entre médias e desvios padrão das quantidades de glândulas de sal e drusas nas folhas de *L. racemosa* provenientes de manguezal impactado e não impactado. Diferenças significativas estão representadas por letras diferentes ($p < 0,05$; t-Student).

estomática. Desta maneira, a maior quantidade de drusas observada em plantas impactadas pode estar relacionada a variações metabólicas diversas, não necessariamente relacionadas à poluição.

Perfis Cromatográficos

Os perfis cromatográficos das amostras do manguezal impactado e não impactado mostraram-se bastante semelhantes. Porém, o volume dos compostos é maior em folhas do manguezal não impactado (Fig.

9). Este tipo de análise fornece um retrato do estado metabólico das folhas analisadas, através dos grupos e volumes de metabólitos secundários produzidos que, segundo Mithöfer *et al.* (2004), compõem o principal mecanismo de resistência à herbivoria. Assim, é de se esperar que este processo esteja ocorrendo em maior intensidade em um ambiente mais preservado, com fauna herbívora abundante e ativa, justificando a maior quantidade de metabólitos secundários encontrada nas folhas.

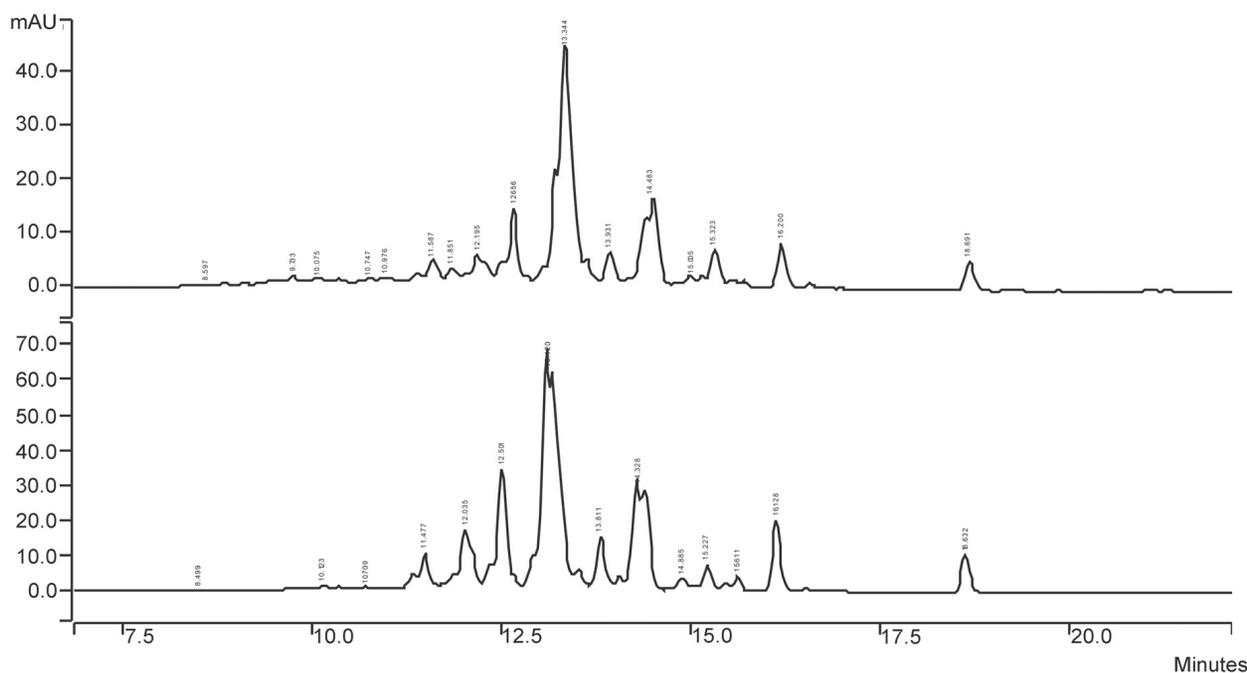


Fig. 9. Cromatogramas registrados em 380 nm, obtidos dos extratos metanólicos de folhas de *L. racemosa*, provenientes de manguezal impactado (acima) e não impactado (abaixo).

REFERÊNCIAS

ABESSA, D.M.S. 2002. **Avaliação da qualidade de sedimentos do Sistema Estuarino de Santos**. 290f. Tese (Doutorado em Oceanografia – Oceanografia Biológica) - Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo.

AIDAR, M.P.M.; COSTA, P.F.; MARTINEZ, C.A.; DIETRICH, S.M.C.; BUCKERIDGE, M.S. 2002. Effect of atmospheric CO₂ enrichment on the establishment of seedlings of jatobá, *Hymenaea courbaril* L. (Leguminosae, Caesalpinioideae). **Biota Neotropica**. Disponível em <<http://www.biotaneotropica.org.br/v2n1/pt/fullpaper?bn01602012002+en>> Acesso em: 14 de Janeiro de 2010.

ALVES, E.S. 2001. Estudo anatômico foliar do clone híbrido 4430 de *Tradescantia*: alterações decorrentes da poluição aérea urbana. **Revista Brasileira de Botânica**, v.24, n.4, p.567-576. Suplemento.

ARANDA, I.; PARDO, F.; GIL, L.; PADOS, J.A. 2004. Anatomical basis of the change in leaf mass per area and nitrogen investment with relative irradiance within the canopy of eight temperate tree species. **Acta Oecologica**, n.25, p.187-195.

BARAN, E.J. 1995. **Química Bioinorgânica**. Madrid: McGraw Hill. p.197-212.

CAMILLERI, J.C.; RIBI, G. 1983. Leaf thickness of mangroves (*Rhizophora mangle*) growing in different salinities. **Biotropica**, v.15, p.139-141.

CASTRO, E.M.; PINTO, J.E.B.P.; SOARES, A.M.; MELO, H.C.; BERTALUCCI, S.K.V.; VIEIRA, C.V.; JÚNIOR, E.C.L. 2007. Adaptações anatômicas de folhas de *Mikania glomerata* Sprengel (Asteraceae),

em três regiões distintas da planta, em diferentes níveis de sombreamento. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.9, p.8-16.

CETESB. 2007. **Relatório de qualidade do ar no estado de São Paulo 2006**. São Paulo. 354p. (Série Relatórios).

CLOUGH, B.F.; TAN, D.T.; PHUONG, D.X. 2000. Canopy leaf area index and litter fall in stands of the mangrove *Rhizophora apiculata* of different age in the Mekong Delta, Vietnam. **Aquatic Botany**, v.66, n.4, p.311-320.

DANILATOS, G.D. 1998. Foundations of environmental scanning electron microscopy. **Advances in Electronics and Electron Physiology**, v.71, p.109-250.

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**, v.50, p.547-552.

FORTES, C.; DUARTE, A.P.; MATSUOKA, S.; HOFFMANN, F.P.; LAVORENTI, N.A. 2003. Toxicidade de flúor em cultivares de milho em área próxima a uma indústria cerâmica, Araras (Sp). **Bragantia**, v.62, n.2, p.275-281.

GERRITS, P.O. 1991. **The application of glycol methacrylate in histotechnology: some fundamental principles**. Groningen: Department of Anatomy and Embryology State University.

KAISER, E. 1880. Verfahren zur Herstellung einer tadellosen Glycerin-Gelatine. **Botanisch Zentralbl.**, v.180, p.25-26.

KANDIL, F.E.; GRACE, M.H.; SEIGLER, D.S.; CHEESEMAN, J.M. 2004. Polyphenolics in *Rhizophora mangle* L. leaves and their changes during leaf development and senescence. **Trees**, v.18, p.518-528.

- KARNOVSKY, M.J. 1965. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative in high osmolality for use in electron microscopy. **Journal of Cell Biology**, v.27, p.137-138.
- KURCZYNSKA, E.U.; DMUCHOWSKI, W.; WLOCH, W.; BYTNEROWICZ, A. 1997. The influence of air pollutants on needles and stems of Scots pine (*Pinus Sylvestris* L.) Trees. **Environmental Pollution**, v.98, p.325-334.
- LAAKSO, K.; HUTTUNEN, S. 1998. Effects of ultraviolet-B radiation (UV-B) on conifers: a review. **Environmental Pollution**, v.99, p.319-328.
- LAMPARELLI, M.L.; COSTA, M.P.; PRÓSPERI, V.A.; BEVILÁQUA, J.E.; ARAÚJO, R.P.A.; EYSINK, G.G.; POMPEIA, S. 2001. **Sistema estuarino de Santos e São Vicente**; relatório técnico CETESB. São Paulo. 178p.
- MARCO, J.A.M.; KISHIMBA, M.A. 2006. Pesticides and metabolites in cassava, eucalyptus, plum and cashew leaves and roots in relation to a point source in Kibaha, Tanzania. **Chemosphere**, v.64, n.4, p.642-548.
- MARTINS, M.B.G.; ZIERI, R. 1989. Leaf anatomy of rubber tree clones. **Scientia Agricola**, v.60, n.4, p.709-713.
- MITHÖFER, A.; SCHULZE, B. & WILHELM, B. 2004. Biotic and heavy metal stress response in plants: evidence for common signal. **FEBS Letters**, v.566, p.1-5.
- MONJE, P.G.; BARAN, E.J. 2002. Characterization of calcium oxalates generated as biominerals in cacti. **Plant Physiology**, v.128, p.707-713.
- MUNNS, R. 2002. Comparative physiology of salt and water stress. **Plant, Cell and Environment**, v.25, p.239-250.
- ORTEGA-VILLASANTE, C.; RELÁN-ALVAREZ, R.; DEL CAMPO, F.F.; CARPENA-RUIZ, R.O.; HERNÁNDEZ, L.E. 2005. Cellular damage induced by cadmium and mercury in *Medicago sativa*. **Journal of Experimental Botany**, v.56, n.418, p.2239-2251.
- PERINA, F.C. 2006. **Comparação entre os efeitos da toxicidade de sedimentos sobre invertebrados bentônicos e vegetação das áreas internas do Sistema Estuarino de Santos e São Vicente**. 47p. Trabalho (Conclusão de Curso em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista "Julho de Mesquita Filho", São Vicente.
- PROSPERI, V.; EYSINK, G.G.J.; SAITO, L.M. 1999. **Avaliação do grau de contaminação do sedimento ao longo do canal de navegação do porto de Santos**; relatório técnico CETESB. São Paulo. 33p.
- RAMOS E SILVA, C.A.; SILVA, A.P.; OLIVEIRA, S.R. 2006. Concentration, stock and transport rate of heavy metals in a tropical red mangrove, Natal, Brazil. **Marine Chemistry**, v.99, p.2-11.
- RUIZ, L.P.; MANSFIELD, T.A. 1994. A postulated role for calcium oxalate in the regulation of calcium ions in the vicinity of stomatal guard cells. **New Phytology**, v.127, n.3, p.473-481.
- SCHOLANDER, P.F.; HAMMEL, H.T.; HEMMINGSEN, E.; GAREY, W. 1962. Salt balance in mangroves. **Plant Physiology**, v.37, n.6, p.722-729.
- SILVA, C.A.R.; SILVA, A.P.; OLIVEIRA, S.R. 2006. Concentration, stock and transport rate of heavy metals in a tropical red mangrove, Natal, Brazil. **Marine Chemistry**, v.9, n.1-4, p.2-11.
- SILVA, N.M.F.; VALENTE, M.C. 1980. Estudo da nervação e epiderme foliar das combretaceae do estado do Rio de Janeiro. **Rodriguésia**, v.32, n.55, p.154-193.
- SNUC, 2000. **Lei nº 9.985, de 18 de Julho de 2000**. Brasília: MMA/SBF, 32p.
- 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**, v.18, n.4, p.422-427.
- SUGIYAMA, M. 1995. A flora do manguezal. In: SCHAEFFER-NOVELLI, Y. **Manguezal: ecossistema entre a terra e o mar**. São Paulo: Caribbean Ecological Research. p.17-21.
- TOMLINSON, P.B. 1986. **The botany of mangroves**. Cambridge: Cambridge Press.
- TWILLEY, R.R.; LUGO, A.E.; PATTERSON-ZUCCA, C. 1986. Litter production and turnover in basin mangrove forests in southwest Florida. **Ecology**, v.67, n.3, p.670-683.
- VARGAS-BOLDRINI, C.; EYSINK, G.G.J.; LAMPARELLI, M.C.; MARTINS, M.C. 1991. Contaminants in the Cubatão River basin and its Estuary (SP, Brazil), relating to the Aquatic Biota. Part II. Organic Compounds. In: **BIENNIAL INTERNATIONAL ESTUARINE RESEARCH CONFERENCE**, 11, 1991, San Francisco. **Proceedings...** San Francisco: 1991. p.485-507.