



**EFEITOS DE POLUENTES ATMOSFÉRICOS
DE UMA INDÚSTRIA MINERADORA SOBRE
CARACTERÍSTICAS MORFOFISIOLÓGICAS
E ANATÔMICAS DE BIOINDICADORES
VEGETAIS EM BRUMADO, BAHIA**

KATIELLE SILVA BRITO KATEIVAS

2018

KATIELLE SILVA BRITO KATEIVAS

**EFEITOS DE POLUENTES ATMOSFÉRICOS DE UMA INDÚSTRIA
MINERADORA SOBRE CARACTERÍSTICAS
MORFOFISIOLÓGICAS E ANATÔMICAS DE BIOINDICADORES
VEGETAIS EM BRUMADO, BAHIA.**

Tese apresentada à Universidade Estadual
do Sudoeste da Bahia, *campus* de Vitória da
Conquista-BA para obtenção do título de
Doutora em Agronomia, Área de
Concentração em Fitotecnia.

Orientador
Prof. Dr. Paulo Araquém Ramos Cairo

Co-orientador
Prof. Dr. Carlos André Espolador Leitão

VITÓRIA DA CONQUISTA
BAHIA – BRASIL
2018

DEDICATÓRIA

*A Deus,
À minha família,
Especialmente à minha filha Cecília, minha fonte de alegrias e inspiração,
de quem tive que abrir mão em tantos momentos para me dedicar a este
trabalho,.*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por Sua infinita bondade e amor, por sempre traçar planos maiores e melhores que os meus, lembrando-me, a cada dia, os dias que ‘todas as coisas cooperam para o bem daqueles que O amam’.

Aos meus pais, Iracema e Messias, pelo amor incondicional, por muitas vezes terem abdicado de seus sonhos para tornar possíveis os meus. Por me mostrarem a importância dos estudos, mesmo não tendo as mesmas oportunidades que eu tive, e sempre incentivando o meu crescimento.

A meu esposo, Leandro, por seu cuidado, companheirismo e amor, por compreender a minha ausência e falta de tempo constantes e me incentivar a nunca desistir!

À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, por ter proporcionado toda a minha formação acadêmica.

Ao professor Paulo Cairo, pela orientação, paciência, ajuda e compreensão, em quem encontrei muito mais que um orientador, um amigo!

Ao professor Carlos André, pela valiosa contribuição, orientação e também paciência!

Aos colegas da pós-graduação, por tornarem leve a longa caminhada. Pela aprendizagem conjunta, que certamente marcou minha vida. Muitos a quem tenho hoje como amigos!

Aos docentes do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, pelo conhecimento transmitido e pela oportunidade desta formação. Muitos a quem tenho como exemplos!

Aos graduandos da iniciação científica, Pedro, Roger e Leohana, pelo auxílio precioso nas avaliações de campo e laboratório, e por não medirem esforços para que a realização do trabalho fosse possível.

Aos queridos colegas do Laboratório de Fisiologia Vegetal, pelos momentos de descontração, e à Virgiane, pela disposição frequente em ajudar.

À DICAP, principalmente na pessoa de Dui, bem como a toda a equipe de trabalhadores de campo, pelos serviços prestados.

À Magnesita Mineração S.A., pelo apoio técnico, logístico e em infraestrutura.

Ao IFBaiano, pela concessão da licença das minhas atividades docentes, para que pudesse me dedicar inteiramente ao doutorado.

Aos meus familiares, que sempre torceram por mim.

Enfim, a todos que, de alguma forma, contribuíram para que a concretização desse trabalho fosse possível, o meu muito obrigada!

RESUMO

BRITO-KATEIVAS, K.S. **Efeitos de poluentes atmosféricos de uma indústria mineradora sobre características morfofisiológicas e anatômicas de bioindicadores vegetais em Brumado, Bahia.** Vitória da Conquista, BA: UESB, 2018. 104 p. (Tese – Doutorado em Agronomia, Área de Concentração em Fitotecnia).*

A extração e o beneficiamento do mineral magnesita, realizados por uma indústria mineradora localizada na cidade de Brumado, na Bahia, resultam em emissões de óxidos de nitrogênio (NO_x) e de enxofre (SO₂), os quais se constituem poluentes atmosféricos, sendo a principal fonte de geração de impactos ambientais. Neste estudo, as espécies *Psidium cattleianum* Sabine, *Lolium multiflorum* Lam. e *Mangifera indica* L. foram selecionadas como bioindicadoras, objetivando testar a hipótese de que as emissões atmosféricas da indústria afetam alguns aspectos morfofisiológicos e anatômicos associados ao crescimento das plantas. Foram realizados experimentos independentes, envolvendo cada uma dessas espécies bioindicadoras, nos quais as plantas foram cultivadas em vasos, em condições de campo, durante um ano, com repetição dos experimentos no ano seguinte. Para tanto, adotou-se delineamento inteiramente casualizado, constituído de dois tratamentos localizados em áreas de propriedade da referida indústria: (1) plantas cultivadas em área susceptível aos efeitos das emissões de NO_x e SO₂ e (2) plantas cultivadas em área livre da influência da pluma formada por esses poluentes. As plantas foram avaliadas, tanto no verão como no inverno, admitindo-se que variações meteorológicas sazonais podem alterar a concentração de poluentes na atmosfera. No decorrer de cada estação, avaliaram-se apenas características morfofisiológicas baseadas em métodos não destrutivos do material vegetal, tais como altura de plantas e índice SPAD. No final do inverno e do período experimental, foram avaliados: número de folhas, área foliar total, massa seca de raízes, caule e folhas e os teores de pigmentos fotossintéticos (clorofila e carotenóides), açúcares solúveis e amido. Foram avaliadas, também, as seguintes características anatômicas, nas duas estações: índice de fitotoxicidade em necroses foliares, aspectos anatômicos gerais das lâminas foliares, distribuição e contagem do número de camadas dos tecidos internos e respectivas estruturas secretoras, alterações anatômicas e necroses. Os resultados variaram em função do ano, da variável considerada e da espécie bioindicadora. No primeiro ano, plantas de *P. cattleianum* expostas aos poluentes reduziram o teor de clorofilas, o qual pode ter sido uma das

* Orientador: Paulo Araquém Ramos Cairo, D.Sc., UESB e Coorientador: Carlos André Espolador Leitão, D.Sc., UESB.

causas para a menor altura de plantas e redução generalizada da matéria seca. No segundo ano, os poluentes levaram aos mesmos efeitos nessa espécie, mas os danos foram menos intensos. A redução de altura e matéria seca em geral, também foi observada em *L. multiflorum*, no primeiro ano. Nos dois anos, contudo, as características morfofisiológicas de *M. indica* não foram afetadas pelos poluentes. O teor de amido foi maior em *P. cattleianum* exposto a poluentes, limitando o suprimento de açúcares solúveis que poderiam ser utilizados nos processos de crescimento das plantas. Em *M. indica*, no entanto, o teor de amido foi menor nas plantas expostas aos poluentes, sugerindo a ocorrência de hidrólise para suprir a demanda de energia que, normalmente, é maior quando as plantas são submetidas a estresses ambientais. De um ano para o outro, as plantas foram afetadas por poluentes atmosféricos em diferentes intensidades, sugerindo que, nesse período, a sazonalidade dos fatores meteorológicos pode ter influenciado a concentração dos poluentes no ar. Em *M. indica* exposta à pluma poluente, houve aumento da densidade dos estômatos, incluindo algumas deformidades, enquanto em *P. cattleianum* verificou-se obstrução de estômatos. As taxas fotossintéticas podem ter sido afetadas por essas mudanças anatômicas. A espessura dos tecidos foliares também foi afetada pela exposição das plantas à pluma poluente, tendo em vista que houve aumento na quantidade de tricomas secretores em *P. cattleianum* e de cristais em *M. indica*.

Palavras-chave: Biomonitoramento ambiental, crescimento vegetativo, metabolismo de plantas, *Lolium multiflorum*, *Mangifera indica*, *Psidium cattleianum*.

BRITO-KATEIVAS, K.S. **Effects of air pollutants from a mining industry on morphophysiological and anatomical characteristics of bioindicator plants in Brumado, Bahia.** Vitória da Conquista – BA: UESB, 2018. 104 p. (Thesis – Doctor in Agronomy, Crop Science).*

ABSTRACT

The magnesite extraction and improving by a mining industry in Brumado city, in Bahia state, is a procedure that expels nitrogen (NO_x) and sulfur (SO_2) oxides which are air pollutants and important cause of environmental impacts. For this study, *Psidium cattleianum* Sabine, *Lolium multiflorum* Lam. and *Mangifera indica* L. were chosen as bioindicator species, with aim to test the hypothesis that air emissions from the industry affect some morphophysiological and anatomical characteristics on plant growth. Independent experiments were carried out with each of these bioindicator species grown in pots and field conditions for one year, and were repeated in the following year. The completely randomized experiments were carried out with plants subjected to treatments that were composed of two areas belonging to said industry, which have the following characteristics: (1) area susceptible to the effects of NO_x and SO_2 and (2) area without the influence of the plume formed by these two pollutants. Plants were evaluated both in summer and winter, assuming that seasonal meteorological variations may change the air pollutant concentration. During each season, only non destructive methods for morphophysiological characteristics, such as plant height and SPAD index, were evaluated. At the end of the winter and experimental period, leaf number, total leaf area, root, stem and leaves dry mass and photosynthetic pigment (chlorophyll and carotenoids), soluble sugars and starch contents were evaluated. In both seasons, anatomical characteristics such as foliar necrosis phytotoxicity index, general leaf blades anatomical aspects, layers of internal tissues distribution and counting and respective secretory structures, anatomical changes and necroses were also evaluated. For each year, the results were diverse according to the variable and the bioindicator species. In the first year, *P. cattleianum* exposed to the pollutants reduced chlorophyll content, which may have been one of the causes for the lower plant height and the generalized dry matter reduction. In the second year, the pollutants had the same effects in these two species, but the damages were less intense. In 2016, plants of *L. multiflorum* exposed to the pollutants had reduced their heights and dry mass. In two years, however, the morphological characteristics of *M. indica* were not affected by the pollutants. The starch content was higher in *P. cattleianum* exposed to pollutants, limiting the soluble sugars supply which could be used in plant growth processes. In *M. indica*, however, the starch content was lower in plants exposed to the pollutants, suggesting the occurrence of hydrolysis to

supply the energy demand that is usually higher when plants are subjected to environmental stresses. From one year to the next, plants were affected by atmospheric pollutants at different intensities, suggesting that during this period the seasonality of meteorological factors may have influenced the air pollution concentration. In *M. indica* exposed to the pollutant plume, there was stomata density increasing, including some deformities, whereas in *P. cattleianum* obstructed stomata were noted. Photosynthetic rates may have been affected by these anatomical changes. Leaf tissue thickness was also affected by plant exposure to the pollutant plume, in view that the amount of secretory trichomes in *P. cattleianum* and crystals in *M. indica* were increased.

Key words: Environmental biomonitoring, plant growth, plant metabolism, *Lolium multiflorum*, *Mangifera indica*, *Psidium cattleianum*.

LISTA DE FIGURAS

<p>Figura 1. Localização das áreas experimentais. Indústria Mineradora, Brumado, Bahia, Brasil. A seta indica a direção dos ventos. Fonte: Google Earth.....</p>	35
<p>Figura 2: Vasos com as espécies bioindicadoras <i>Psidium cattleianum</i>, <i>Mangifera indica</i> e <i>Lolium multiflorum</i>, distribuídos em uma das áreas (Área 1) onde os experimentos foram realizados.....</p>	37
<p>Figura 3. Aferição da altura de plantas de <i>Psidium. cattleianum</i> (A), <i>Mangifera indica</i> (B) e <i>Lolium multiflorum</i> (C)</p>	39
<p>Figura 4. Estimativa do teor de clorofila (Índice SPAD).....</p>	40
<p>Figura 5. Dados sobre temperatura média, umidade relativa do ar, precipitação, pressão atmosférica e radiação no município de Brumado, Bahia, nos anos 2016 e 2017.....</p>	50
<p>Figura 6: Teores de clorofilas totais em folhas de <i>Psidium cattleianum</i>, <i>Lolium multiflorum</i> e <i>Mangifera indica</i>, avaliados no final de cada ano (2016 e 2017) de realização dos experimentos. Em cada ano, para cada espécie, letras iguais indicam que os tratamentos não diferem entre si, de acordo com o teste t ($p \leq 0,05$)</p>	58
<p>Figura 7. Teores de açúcares solúveis em folhas de <i>Psidium cattleianum Sabine</i>, <i>Lolium multiflorum</i> e <i>Mangifera indica</i> avaliados no final de cada ano de realização dos experimentos (2016 e 2017). Em cada espécie bioindicadora, letras iguais indicam que os tratamentos não diferem entre si, de acordo com o teste t ($p \leq 0,05$).....</p>	62
<p>Figura 8. Teores de amido em folhas de <i>Psidium cattleianum</i>, <i>Lolium multiflorum</i> e <i>Mangifera indica</i> avaliados no final de cada ano de realização dos experimentos (2016 e 2017). Em cada espécie bioindicadora, letras iguais indicam que os tratamentos não diferem entre si, de acordo com o teste t ($p \leq 0,05$)</p>	64
<p>Figura 9. Índice de necrose foliar em <i>Psidium cattleianum</i> e <i>Mangifera indica</i>, em 2017. R = área de referência (livre de poluentes); P = área exposta à pluma de poluentes. Em cada espécie e dentro de cada estação, letras iguais indicam que os tratamentos não diferem entre si de acordo com o teste t ($p \leq 0,05$)</p>	67
<p>Figura 10. Manchas de aspecto necrótico em folhas de <i>Psidium cattleianum</i> (araçá) e <i>Mangifera indica</i> (manga) na área exposta à pluma de poluentes</p>	68
<p>Figura 11. Lâmina foliar de <i>Psidium cattleianum</i> corados com Azul de Toluidina, de plantas provenientes da área de referência (A) e da área exposta à pluma de poluentes (B) (cortes transversais). As cavidades secretoras estão indicadas por setas. EAb = epiderme</p>	

abaxial; EAd = epiderme adaxial; Hd = hipoderme; M = mesofilo; PL = parênquima lacunoso; PP = parênquima paliçádico	69
Figura 12. Lâmina foliar de <i>Psidium cattleianum</i> (cortes transversais). (A) Porção adaxial, evidenciando cristais de oxalato de cálcio do tipo drusa (indicados por setas), de uma planta da área de referência (B) Porção adaxial, evidenciando cristais de oxalato de cálcio do tipo drusa (indicados por setas), de uma planta proveniente da área exposta à pluma de poluentes. (C) Bordo, evidenciando cavidades secretoras (indicadas por setas) em folha de uma planta proveniente da área exposta à pluma de poluentes. (D) Detalhe de cavidade secretora (seta curta) contendo secreção (seta longa) em um indivíduo proveniente da área exposta à pluma de poluentes. EAb = epiderme abaxial; EAd = epiderme adaxial; Hd = hipoderme; FV = feixe vascular; PL = parênquima lacunoso; PP = parênquima paliçádico; CS = cavidade secretora; S = secreção	70
Figura 13. Cortes transversais da lâmina foliar de <i>Mangifera indica</i> corados com Azul de Toluidina, de plantas provenientes das áreas de referência (A) e exposta à pluma de poluentes (B). EAb = epiderme abaxial; EAd = Epiderme adaxial; PL = parênquima lacunoso; PP = parênquima paliçádico; M = mesofilo	71
Figura 14. Cortes paradérmicos da epiderme foliar abaxial de <i>M. indica</i> corados com Azul de Toluidina, evidenciando estômatos geminados, em plantas provenientes das duas áreas estudadas. Nas folhas das plantas da área de referência (A e C), os estômatos geminados possuem aspecto normalal, enquanto nas plantas expostas à pluma de poluentes (B e D) os mesmos aparecem deformados (indicados por setas). As fotos representam amostras colhidas no verão (A e B) e no inverno (C e D) de 2016.....	72
Figura 15. Cortes paradérmicos da epiderme foliar abaxial de <i>Psidium cattleianum</i> corados com Azul de Toluidina, evidenciando estômatos sem (A) e com (B, C e D) material obstruindo o ostíolo (indicado por setas), em plantas da área de referência (A e C) e expostas à pluma de poluentes (B e D). Amostras colhidas no verão (A e B) e no inverno (C e D) de 2016.....	74
Figura 16. Cortes paradérmicos da epiderme foliar abaxial de <i>Mangifera indica</i> corados com Azul de Toluidina, evidenciando estômatos com material obstruindo o ostíolo (indicado por setas), em plantas da área de referência (A) e expostas à pluma de poluentes (B). Amostras colhidas no inverno de 2016.....	75
Figura 17. Cortes transversais da lâmina foliar de <i>Lolium multiflorum</i> corados com Azul de Toluidina (A) Amostra proveniente de plantas expostas à pluma de poluentes. Os ressaltos na face adaxial encontram-se indicados por setas. (B) Corte transversal da lâmina foliar na região da nervura central, de amostra proveniente de planta da área de referência. Os espaços intercelulares amplos encontram-se	

indicados com asteriscos. FAb = face abaxial; FAd = face adaxial; NC = nervura central; EAb = epiderme abaxial; EAd = epiderme adaxial; Fb = fibras; FV = feixe vascular; M = mesofilo; Mm = medida do mesofilo adotada neste estudo 76

Figura 18. Cortes transversais da lâmina foliar de *Lolium multiflorum* corados com Azul de Toluidina, na região entre a nervura principal e o bordo, também corado com Azul de Toluidina, de uma planta da área de referência (A) e de uma planta exposta à pluma de poluentes (B). Os espaços intercelulares amplos encontram-se indicados por asteriscos. Es = estômato; Fb = fibras; FV = feixe vascular; EAb = epiderme abaxial; EAd = epiderme adaxial; M = mesofilo; TT = tricoma tector 76

Figura 19. Cortes transversais da lâmina foliar de *Lolium multiflorum* na região da face adaxial, corados com Azul de Toluidina. (A) Amostra de uma planta exposta à pluma de poluentes. Os espaços intercelulares amplos encontram-se indicados por asteriscos. (B) Amostra proveniente de plantas da área de referência. Corpúsculos hialinos associados ao núcleo encontram-se indicados por setas. CG = células-guarda; CS = células subsidiárias; Fb = fibras 77

Figura 20. Lâmina foliar de *Psidium cattleianum* (corte transversal), evidenciando cristais de oxalato de cálcio do tipo drusa, sob luz polarizada 81

Figura 21. Cortes transversais de lâmina foliar em *Psidium cattleianum* corados com Azul de Toluidina, sob luz não polarizada (A, C) e polarizada (B, D), evidenciando a presença de cristais de oxalato de cálcio do tipo drusa, em amostras provenientes de plantas da área de referência (A e B) e de plantas expostas à pluma de poluentes (C e D) 81

Figura 22. Corte transversal de lâmina foliar de *M. indica*, corado com Azul de Toluidina, sob luz polarizada, evidenciando a presença de cristais de oxalato de cálcio do tipo prismático (indicados por setas), em amostra colhida de folhas expostas à pluma de poluentes 82

Figura 23. Cortes transversais de lâmina foliar de *Mangifera indica* corados com Azul de Toluidina, sob luz não polarizada (A e C) e sob luz polarizada (B e D), evidenciando a presença de cristais de oxalato de cálcio do tipo prismático (indicados por setas) em planta da área de referência (A e B) e em planta exposta à pluma de poluentes (C e D). EAb = epiderme abaxial; FV = feixe vascular 83

Figura 24. Cortes transversais de lâmina foliar de *Psidium cattleianum* submetidos ao teste com dicromato de potássio, evidenciando a presença de compostos fenólicos (cor âmbar) em plantas da área de referência (A) e expostas à pluma de poluentes (B). As cavidades secretoras encontram-se indicadas por setas..... 84

Figura 25. Cortes transversais de lâmina foliar de *Mandifera indica*

submetidos ao teste com dicromato de potássio, evidenciando a presença de compostos fenólicos (cor âmbar) em plantas da área de referência (A) e expostas à pluma de poluentes (B)	84
Figura 26. Corte transversal da porção abaxial da lâmina foliar de <i>Psidium cattleianum</i> corado com Azul de Toluidina, proveniente de plantas da área de referência. E = estômato; TT = tricoma tector	86
Figura 27. Cortes paradérmicos da epiderme foliar abaxial de <i>Psidium cattleianum</i> Sabine, evidenciando a presença de tricomas tectores (indicados por setas), em planta da área de referência (A) e exposta à pluma de poluentes (B)	86
Figura 28. Cortes transversais da lâmina foliar de <i>Mangifera indica</i> corados com Azul de Toluidina (A, B, C) e dicromato de potássio (D), evidenciando a presença de tricomas secretores (indicados por setas) em plantas da área de referência (A) e em plantas expostas à pluma de poluentes (B, C e D), apresentando deformidade, lesão e compostos fenólicos, respectivamente	87
Figura 29. Cortes transversais da lâmina foliar de <i>Mangifera indica</i> corados com Azul de Toluidina, evidenciando grãos de amido nas células de plantas da área de referência, em menor (A) e maior (B) aumento	88

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Altura média de plantas de <i>Psidium cattleianum</i> , <i>Lolium multiflorum</i> e <i>Mangifera indica</i> nos anos de 2016 e 2017, em diferentes épocas em cada ano. R = área de referência (livre de poluentes); P = área exposta à pluma de poluentes. Em cada mês do ano, para cada espécie bioindicadora, letras iguais na mesma linha indicam que os tratamentos não diferem entre si, de acordo com o teste t ($p \leq 0,05$).	52
Tabela 2. Área foliar total, número de folhas e massas secas de raízes, folhas e caules, em plantas de <i>Psidium cattleianum</i> , <i>Lolium multiflorum</i> e <i>Mangifera indica</i> avaliadas ao final do primeiro ano do experimento (2016). R = área de referência (livre de poluentes); P = área exposta à pluma de poluentes. Em cada espécie, letras iguais na mesma linha indicam que os tratamentos não diferem entre si, de acordo com o teste t ($p \leq 0,05$).	54
Tabela 3. Área foliar total, número de folhas e massas secas de raízes, folhas e caules, em plantas de <i>Psidium cattleianum</i> , <i>Lolium multiflorum</i> e <i>Mangifera indica</i> avaliadas ao final do segundo ano do experimento (2017). R = área de referência (livre de poluentes); P = área exposta à pluma de poluentes. Em cada espécie, letras iguais na mesma linha indicam que os tratamentos não diferem entre si, de acordo com o teste t ($p \leq 0,05$)	54
Tabela 4. Índice SPAD de plantas de <i>Psidium cattleianum</i> , <i>Lolium multiflorum</i> e <i>Mangifera indica</i> avaliadas nos anos de 2016 e 2017. R = área de referência (livre de poluentes); P = área exposta à pluma de poluentes. Em cada época de avaliação, para cada espécie bioindicadora, letras iguais na mesma linha indicam que os tratamentos não diferem entre si, de acordo com o teste t ($p \leq 0,05$) ...	57
Tabela 5. Densidade estomática e número de cavidades em folhas de <i>P. cattleianum</i> e <i>M. indica</i> durante duas estações, em 2016	73
Tabela 6. Espessura média de tecidos foliares de <i>Psidium cattleianum</i> , <i>Lolium multiflorum</i> e <i>Mangifera indica</i> avaliados no final do verão e do inverno, em 2016. R = área de referência (livre de poluentes); P = área exposta à pluma de poluentes. Em cada estação, para cada espécie, letras iguais indicam que os tratamentos não diferem entre si, de acordo com o teste t ($p \leq 0,05$)	78

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
2 REFERENCIAL TEÓRICO	22
2.1 Principais poluentes atmosféricos e seus efeitos nas plantas	22
2.2 Biomonitoramento com espécies vegetais	24
2.3 Alterações fisiológicas e bioquímicas em plantas sujeitas à ação de poluentes	26
2.4 Alterações anatômicas em plantas sujeitas à ação de poluentes ..	28
2.5 Influência das condições climáticas sobre a ação dos poluentes .	30
3 MATERIAL E MÉTODOS	34
3.1 Caracterização da área experimental	34
3.2 Obtenção das espécies bioindicadoras e procedimentos de semeadura e plantio	35
3.3 Cronograma de avaliações	38
3.4 Características avaliadas	38
3.4.1 Avaliações morfológicas e fisiológicas não destrutivas	39
3.4.1.1 Altura média de plantas	39
3.4.1.2 Índice SPAD – estimativa do teor de clorofila	38
3.4.2 Avaliações morfológicas, fisiológicas e bioquímicas por métodos destrutivos	40
3.4.2.1 Número de folhas, área foliar total e massa seca	41
3.4.2.2 Extração e quantificação dos teores de pigmentos fotossintéticos	42
3.4.2.3 Extração e quantificação dos teores de açúcares solúveis	43
3.4.2.4 Extração e quantificação dos teores de amido	43
3.4.3 Características anatômicas	44
3.4.3.1 Índice de fitotoxicidade de necroses foliares	44
3.4.3.2 Processamento em anatomia vegetal	45
3.4.3.3 Análise e documentação fotográfica	47
3.4.3.4 Densidade estomática e contagem de cavidades	47
3.4.3.5 Medições anatômicas	47
3.4.4 Análise estatística	48

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
4.1 Dados climáticos da região	50
4.2 Características morfológicas e fisiológicas	51
4.2.1 Altura de plantas, área foliar, número de folhas e massa seca.....	51
4.2.2 Índice SPAD e teores de clorofila total	56
4.2.3 Teores de açúcares solúveis e amido	61
4.3 Características morfo-anatômicas	66
4.3.1 Índice de fitotoxidade de necroses foliares	66
4.3.2 Caracterização dos tecidos e densidade estomática	69
4.3.3 Morfometria	77
4.3.4 Cristais, compostos fenólicos e tricomas tectores	80
5 CONCLUSÕES	90
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	92

1 INTRODUÇÃO

A Serra das Éguas, localizada nas imediações do município de Brumado, no sudoeste da Bahia, a aproximadamente 540 Km de Salvador, possui importantes reservas do mineral magnesita no subsolo, sendo um dos principais depósitos desse mineral no Brasil. Desde a década de 1940, esses depósitos vêm sendo explorados por uma indústria mineradora, que, nos últimos dois anos, tem direcionado o beneficiamento do mineral magnesita somente para a produção de óxido de magnésio, embora outras empresas se dediquem à produção de talco.

O funcionamento da Indústria de flotação de magnesita, dos fornos de calcinação e sintetização e da Indústria de processamento de talco industrial, que caracteriza o beneficiamento de magnesita, resulta em emissões de óxidos de nitrogênio (NO_x) e de enxofre (SO_2), que se constituem poluentes atmosféricos que geram impactos ambientais. Ao longo dos anos, estudos sobre impactos ambientais decorrentes do beneficiamento industrial de magnesita restringiram-se a avaliar possíveis efeitos na saúde das pessoas que vivem em áreas sujeitas à influência da pluma formada por esses poluentes. Estudos direcionados à avaliação desses efeitos sobre o comportamento das plantas, nessas áreas, contudo, ainda são inexistentes.

Alterações na qualidade do ambiente, em certa medida, podem ser detectadas por alguns organismos vivos, que são conhecidos como bioindicadores, porque manifestam diferentes formas de percepção dos efeitos nocivos da presença de poluentes. A utilização de bioindicadores, com o propósito de verificar a ocorrência de poluentes e a intensidade dos seus efeitos numa determinada área, através de um método experimental indireto, é denominada biomonitoramento (CARNEIRO e TAKAYANAGUI, 2009).

Os poluentes do ar costumam exercer efeitos negativos sobre o metabolismo vegetal, resultando, quase sempre, em redução do crescimento e desenvolvimento de plantas. Os poluentes podem afetar também a condutância de gases através dos estômatos, comprometendo a fotossíntese e a transpiração. Decréscimos na taxa de fotossíntese, em resposta à poluição atmosférica, resultam em menor produção de biomassa, reduzindo o crescimento vegetativo e o rendimento de culturas agrícolas (BELL e outros, 2017).

Dentre as espécies vegetais que podem atuar como bioindicadores, algumas são consideradas também como culturas agrícolas, com diferentes graus de importância econômica. Levando-se em conta essa peculiaridade, para o biomonitoramento, a escolha da espécie pode representar a oportunidade de avaliar, simultaneamente, não apenas os possíveis efeitos dos poluentes sobre a fisiologia, a anatomia e o crescimento vegetativo, mas também, os seus impactos sobre a produtividade e o rendimento de culturas que interferem na economia de determinadas regiões.

A microrregião de Brumado é um importante polo produtor e exportador da manga (*Mangifera indica* L, Anacardiaceae.), uma das culturas de maior importância para o nordeste brasileiro (EMBRAPA, 2010). Devido às alterações fisiológicas e anatômicas em mangueiras submetidas a diferentes poluentes atmosféricos, relatadas por vários autores (MORAES e outros, 2002; KLUMPP e outros, 2003; PRAJAPATI e TRIPATHI, 2008; MONDAL e outros, 2011; PATHAK e PANCHOLI, 2014), essa espécie é reconhecida como importante bioindicador, sendo considerada uma planta tolerante à poluição (PRIYANKA e DIBYENDU, 2009).

O araçá ou araçazeiro (*Psidium cattleianum* Sabine – Myrtaceae), uma frutífera de ocorrência também no estado da Bahia, apesar de ainda não ter muita expressão econômica, é uma cultura tida como alternativa para a agricultura familiar, em virtude das características dos seus frutos e da boa aceitação para consumo (FRANZON e outros, 2009; BARBIERI, 2011). Em alguns estudos de biomonitoramento, essa espécie é apontada como

bioindicador, devido à sua sensibilidade a poluentes atmosféricos, manifestando, muitas vezes, injúrias visíveis (KLUMPP e outros, 1998; MORAES e outros, 2002).

O azevém (*Lolium multiflorum* Lam. – Poaceae), por sua vez, apesar de não ser uma cultura de ocorrência natural no nordeste brasileiro, é uma forrageira utilizada na alimentação do gado, sendo considerada boa alternativa nos períodos de seca (ALVIM, 2000). Esta espécie também é reconhecida como bioindicador vegetal (SANDRIN e outros, 2008; FRANCINE e outros, 2010).

Em estudos que envolvem biomonitoramento, deve-se considerar que a permanência, concentração e dispersão dos poluentes na atmosfera, a depender das suas características físicas e químicas, podem ser influenciadas pela sazonalidade anual de fatores climáticos, tais como temperatura, umidade relativa do ar e precipitação. A influência da sazonalidade sobre a qualidade do ar tem sido investigada, tanto em relação aos seus efeitos sobre a saúde humana (IKRAM e outros, 2015), como também sobre o comportamento fisiológico de espécies vegetais (MORAES e outros, 2002; PRAJAPATI e TRIPATHI, 2008). Por este motivo, é recomendável que a duração do biomonitoramento seja suficientemente abrangente, a ponto de permitir avaliar respostas dos bioindicadores em diferentes estações do ano.

Para este estudo, foram selecionados três bioindicadores vegetais, objetivando testar a hipótese de que emissões atmosféricas de óxidos de nitrogênio (NO_x) e de enxofre (SO₂), decorrentes do beneficiamento da magnesita por uma Indústria mineradora, no município de Brumado-BA, afetam parâmetros fisiológicos e anatômicos associados ao crescimento das plantas.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Principais poluentes atmosféricos e seus efeitos nas plantas

Os principais poluentes atmosféricos são o dióxido de carbono (CO_2), proveniente principalmente da queima de combustíveis fósseis (AGRAWAL e DEEPAK, 2003); o monóxido de carbono (CO), considerado um dos gases mais perigosos liberados pela Indústria, com efeitos similares aos do CO_2 (MUNEER e outros, 2014); o dióxido de enxofre (SO_2), liberado principalmente pelas indústrias, e conhecido por sua alta toxicidade, sendo um dos gases que reagem com moléculas de água, formando a chuva ácida; e os óxidos de nitrogênio (NO_x), de natureza corrosiva e altamente oxidante, sendo produzidos por processos de combustão (MATEOS e GONZALEZ, 2016; BELL e outros, 2017). Em elevadas temperaturas, como durante o processo de combustão, o oxigênio do ar pode reagir com o nitrogênio molecular, formando monóxido de nitrogênio (NO). A oxidação de NO dá-se pela reação com hidrocarbonetos voláteis, formando o dióxido de nitrogênio (NO_2) (CARNEIRO e TAKAYANAGUI, 2009; BELL e outros, 2017). Os NO_x e hidrocarbonetos, sob radiação solar, sofrem reações fotoquímicas complexas, sendo o ozônio (O_3) o principal componente da poluição fotoquímica gerada (FREEDMAN, 1995; MUNEER e outros, 2014).

Os principais poluentes liberados na área deste estudo são SO_2 , NO_x e material particulado. Apesar de o enxofre ser um elemento essencial às plantas, devido à sua presença em aminoácidos, proteínas, vitaminas e clorofila (MAUGH II, 1979), e à sua participação em várias etapas do metabolismo de carbono (AGRAWAL e outros, 2003), o enxofre também pode ser tóxico às plantas. A fitotoxicidade de SO_2 depende da sua concentração e da duração da exposição das plantas. Baixas doses de enxofre podem ser úteis às plantas, podendo amenizar deficiências de outros

nutrientes, como o Fe (MUNEER e outros, 2013). Todavia, exposições de plantas a altas doses de enxofre podem causar necrose e clorose foliar e inibir o crescimento, causando a morte da planta.

O aumento acentuado das emissões antropogênicas de compostos sulfurosos, principalmente óxidos de enxofre, em função da queima de combustíveis fósseis, há muito tempo vem causando danos às florestas (LIMA, 1980; SZABO e outros, 2003). O óxido de enxofre é absorvido pelas plantas principalmente pelo fluxo difusivo através dos estômatos, promovendo respostas variadas, como abertura ou fechamento dos estômatos, a depender das espécies e das condições ambientais (LUCAS, 1990; IMAI e KOBORI, 2008). Evitar a entrada do SO₂, com base na estratégia de fechamento estomático, implica em redução também na fotossíntese e, conseqüentemente, no crescimento da planta (RENNENBERG e outros, 1996; SZABO e outros, 2003; WOO e JE, 2006; SEYYEDNEJAD e outros, 2011).

A partir do NO_x encontrado na atmosfera, reações químicas convertem NO a NO₂, podendo ainda produzir O₃ (MUNEER e outros, 2014). A absorção de NO₂ pelas folhas se dá através dos estômatos, embora uma parcela desse gás possa se difundir através da cutícula (LARCHER, 2006). Em contato com a água nas paredes celulares, formam-se os ácidos nítrico e nitroso, os quais, após sofrerem ionização, resultam em NO₃⁻ e NO₂⁻. As enzimas redutase de nitrato e redutase de nitrito catalisam a redução desses íons a NH₄⁺, que é precursor da síntese de aminoácidos e proteínas (SIEGWOLF, 2001; TAIZ et al., 2017). Quando a demanda nutricional por nitrogênio é excedida, há implicações para diversos processos metabólicos, como síntese de clorofilas, taxa fotossintética e respiração (SEYYEDNEJAD e outros, 2009; HU e outros, 2015).

Apesar de geralmente serem necessárias altas concentrações atmosféricas de NO₂ para o surgimento de danos às espécies vegetais, sabe-se que, quando o NO₂ está associado ao SO₂, sua ação fitotóxica pode ser ampliada. Segundo Pande e Mansfield (1985), quando NO₂ e SO₂ atuam de

forma combinada em cevada (*Hordeum vulgare*), os danos às plantas são maiores do que quando esses gases atuam isoladamente, diminuindo a área foliar e a massa seca de raiz, folha e restolho, afetando negativamente o crescimento, com o aumento das concentrações atmosféricas de SO₂ + NO₂. Estudos realizados por Mateos e Gonzalez (2016) com *Ramalina celastri* corroboraram o entendimento de que ocorre sinergia quando NO₂ e SO₂ estão combinados, isto é, o NO₂ pode acentuar os efeitos negativos do SO₂, potencializando os efeitos negativos desses gases sobre o crescimento das plantas.

2.2 Biomonitoramento com espécies vegetais

Alguns poluentes são encontrados no ambiente em concentrações muito baixas, que podem dificultar a sua determinação por métodos químicos ou físicos, mas plantas bioindicadoras podem detectar algumas dessas concentrações com muita eficiência (OLIVA e FIGUEIREDO, 2005).

Os métodos convencionais de monitoramento da qualidade do ar, apesar de serem importantes para verificar se as emissões encontram-se dentro dos limites estabelecidos pela legislação, não permitem avaliar os efeitos de poluentes sobre os seres vivos. Por este motivo, esses métodos não podem ser usados diretamente para prever riscos à população, já que os organismos vivos reagem aos poluentes aéreos e a outros fatores ambientais de maneira integrada (ALVES, 2001).

O emprego de alguns organismos vivos, conhecidos como bioindicadores, é uma alternativa para auxiliar a detecção de alterações perigosas na qualidade do ambiente. O biomonitoramento é um método experimental indireto, que faz uso de bioindicadores para verificar a ocorrência de poluentes e a intensidade dos seus efeitos numa determinada área. Os bioindicadores reagem a essas substâncias que se acumulam em seus tecidos, ocasionando alterações bioquímicas, fisiológicas e morfológicas (KLUMPP e outros, 2001).

Nesse sentido, o biomonitoramento é um método mais vantajoso, que se mostra eficiente em relação aos métodos convencionais, seja por avaliar os efeitos da presença de elementos químicos em baixas concentrações ambientais, seja por permitir o monitoramento de áreas amplas, por longos períodos, a um custo mais reduzido (AQUINO e outros, 2011). O biomonitoramento dispensa o uso de equipamentos sofisticados, que costumam ser utilizados para se quantificar a eventual presença de elementos químicos presentes em baixas concentrações no ambiente, em áreas amplas (KLUMPP e outros, 2003; OLIVA e FIGUEIREDO, 2005). Ele também expressa melhor a qualidade do ar porque avalia respostas de sistemas biológicos de modo integrado, ou seja, a ação de vários poluentes ao mesmo tempo e em condições atmosféricas reais (AQUINO, 2011).

Estudos com bioindicadores vegetais, apesar de numerosos em países de clima temperado (KLUMPP e outros 2001; 2009), são pouco realizados no Brasil, concentrando-se principalmente na região de Cubatão - SP (MORAES e outros, 2000; 2002; SZABO e outros, 2003; SILVA e outros, 2013; NAKAZATO e outros, 2016).

No Brasil, algumas espécies vegetais, como *Mangifera indica* L., *Nicotiana tabacum* L., *Psidium guajava* L., *Psidium cattleianum* Sabine, *Lolium multiflorum* Lam., *Lolium perene* L. e *Tibouchina pulchra* Cogn., além de líquens, têm sido utilizadas para fins de biomonitoramento. Nessas espécies, é comum haver manifestações de alterações fisiológicas, bioquímicas e anatômicas, como respostas à exposição aos poluentes atmosféricos (KLUMPP e outros, 1998; 2000; 2003; MORAES e outros, 2002; SOUZA e outros, 2005; CARMINITTI e outros, 2007; FURLAN e outros, 2007; PERRY e outros, 2008; ROCHA e outros, 2008; SANDRIN e outros, 2008; ESPOSITO e outros, 2009; AQUINO e outros, 2011; SILVA e outros, 2013; NAKAZATO e outros, 2016).

No estado da Bahia, têm sido avaliados os efeitos dos poluentes liberados pelo polo petroquímico de Camaçari, principalmente SO_x e NO_x sobre *Mangifera indica* L. e *Phaseolus vulgaris* L. (LIMA e outros, 2000);

SOx e metais pesados sobre *Mangifera indica* L., *Anacardium occidentale* L., *Artocarpus heterophyllus* Lam. e *Cocos nucifera* L. (KLUMPP e outros, 2003); e metais pesados sobre *Anacardium occidentale* L., *Miconia albicans* Sw. e *Byrsonima sericea* (SANTOS e outros, 2012).

2.3 Alterações fisiológicas e bioquímicas em plantas sujeitas à ação de poluentes

Em geral, os poluentes são absorvidos pelas plantas através dos estômatos ou pelas raízes, e seus efeitos são variados, às vezes contraditórios, principalmente devido à diferença de sensibilidade das plantas à poluição. Algumas espécies são susceptíveis à poluição (bioindicadoras de reação), enquanto outras podem acumular os poluentes em altas concentrações, sem que sintomas visíveis sejam observados (bioindicadoras de acumulação) (ALVES e outros, 2008; KLUMPP e outros, 2001).

Em espécies bioindicadoras de reação, os poluentes podem causar redução ou estímulo no crescimento, inibição da germinação de sementes, remoção da cera epicuticular e de constituintes da cutícula e alterações nas trocas gasosas e nas taxas respiratórias e fotossintéticas (AGRAWAL e DEEPAK, 2003; KLUMPP e outros, 2003; SZABO e outros, 2003; WOLFF e outros, 2009; SANTOS e outros, 2012; KARDEL e outros, 2013), além de redução na massa seca (SZABO e outros, 2003).

Alterações nos teores de clorofilas (incluindo sintomas de clorose e necrose), açúcares, proteínas e outros componentes orgânicos (THAWALE e outros, 2011; RAI, 2016) são alguns efeitos fisiológicos de plantas sujeitas aos poluentes, e que podem afetar, ou não, o crescimento e a biomassa das plantas.

Vários trabalhos demonstraram efeitos negativos e deletérios sobre características fisiológicas, como alterações metabólicas e redução no crescimento. Estudos realizados com araçazeiros (*Psidium cattleianum*

Sabine) submetidos à emissão de poluentes no Brasil revelaram alterações significativas no metabolismo de antioxidantes e no crescimento vegetativo (MORAES e outros, 2002; ALVES e outros, 2011). Em três localidades do polo industrial de Cubatão, São Paulo, Brasil, o acúmulo de SO₂ na atmosfera diminuiu a produção de massa seca em todos os órgãos de *Tibouchina pulchra* Cogn., especialmente em raízes, reduzindo a razão raízes/parte aérea (SZABO e outros, 2003). Agrawal e outros (2003) observaram que o acúmulo de SO₂, NO₂ e O₃ em áreas periurbanas de Varanasi, na Índia, pode influenciar a produtividade de alguns cultivos agrícolas de *Beta vulgaris*, *Brassica campestris*, *Vigna radiata* e *Triticum aestivum*, tendo em vista os efeitos desses poluentes sobre vários parâmetros fisiológicos das plantas, tais como biomassa, altura, pigmentos e produção de sementes.

Os poluentes também causaram redução na área foliar e no número de folhas em *Tectona grandis* L., devido à menor produção de folhas e ao aumento da senescência. A redução da área foliar pode resultar em menor radiação absorvida e, conseqüentemente, redução da taxa fotossintética e declínio em produtividade (ANOOB e outros, 2017).

A fotossíntese também é sensível à acidificação do estroma do cloroplasto, provocada pela ação de alguns poluentes (dissociação do SO₂, por exemplo), tornando necessária a correção do pH. Entretanto, as formas de estabilização conferidas pela própria célula, todas ligadas ao metabolismo celular, podem não ser suficientes para lidar com a acidez provocada, afetando a fotossíntese (PFANZ e outros, 1987).

Agrawal e Deepak (2003), entretanto, relataram aumento da taxa fotossintética e parâmetros associados, em plantas de *Triticum aestivum* L. submetidas a emissões de SO₂ e CO₂. Segundo esses autores, níveis altos de CO₂ estimulam a atividade de carboxilação da rubisco, desviando carbono da fotorrespiração para o ciclo de redução do carbono, amenizando os efeitos danosos do SO₂. Além disso, em pequenas quantidades e em determinadas

situações, os poluentes podem funcionar como nutrientes para algumas espécies de plantas (MAUGH II, 1979).

2.4 Alterações anatômicas em plantas sujeitas à ação de poluentes

Em vários estudos que avaliaram injúrias causadas por poluentes, a análise de características anatômicas de lâminas foliares tem sido usada como referência importante, tendo em vista que as folhas são o órgão mais sensível à poluição (SANT'ANNA-SANTOS e outros, 2006a; 2006b; ALVES e outros 2008; 2011; PEDROSO e ALVES, 2015). Os principais efeitos sobre as superfícies foliares são o aparecimento de lesões na cutícula e epiderme (SILVA e outros, 2000) e necroses (MORAES e outros, 2002; PEDROSO e ALVES, 2015).

Em algumas espécies, as alterações estruturais só podem ser identificadas por meio de microscopia e análises bioquímicas, e, por isso, são denominadas biossensores ou biomarcadoras (DE TEMMERMAN e outros, 2001; PEDROSO e ALVES, 2015).

Algumas mudanças estruturais que podem ocorrer em plantas expostas a poluentes também incluem aumento ou diminuição de densidade estomática (ALVES e outros, 2008; GOSTIN, 2009a), aumento ou diminuição de espaços intercelulares (SANT'ANNA-SANTOS e outros, 2012) e alterações no tamanho e na forma dos estômatos e das células do mesofilo (GIACOMO e outros, 2010), incluindo alterações na sua espessura e na dos parênquimas (PEDROSO e outros, 2008; GOSTIN, 2009a).

As mudanças estruturais observáveis, muitas vezes, são ligadas a reduções nas taxas de transpiração e fotossíntese. Essas reduções ocorrem, entre outros fatores, devido à desagregação das ceras epicuticulares, que chegam a obstruir os estômatos, impedindo as trocas gasosas (VISKARI e outros, 2000; SILVA e outros, 2005; ROCHA e outros, 2014; SILVA e outros, 2015), levando à redução no crescimento da planta, como consequência do menor suprimento de carboidratos e reguladores de

crescimento (PALLARDY, 2008). A obstrução dos estômatos também pode ocorrer devido à deposição particulada, cujos efeitos sobre a planta são, de igual forma, danosos. Além de influenciar as trocas gasosas, a deposição particulada bloqueia a difusão de gases, o que aumenta a temperatura foliar. Maior solubilidade, por sua vez, leva à modificação nas propriedades de membranas celulares, com aumento na fluidez, alterando a sua permeabilidade (SILVA e outros, 2006). Além disso, modifica a atividade enzimática, causa desnaturação de proteínas e afeta a estrutura química de macromoléculas (LARCHER, 2006).

Segundo Alves e outros (2001), referindo-se ao clone híbrido 4430 de *Tradescantia* (*T. subcaulis* Bush x *T. hirsutiflora* Bush), um conhecido bioindicador, a espessura das folhas diminui quando essas plantas são expostas à grande carga de material particulado e poluentes primários, decorrentes do intenso tráfego automotivo, como SO₂, NO_x e CO. Efeitos semelhantes foram registrados em plantas de pitanga (*Eugenia uniflora* L.), expostas a essa mesma carga de poluentes, ou seja, as folhas tornam-se menores, mais estreitas e com mesófilos e parênquimas menos espessos que em plantas expostas à poluição (SILVA e outros, 2005; ALVES e outros, 2008; SILVA e outros, 2015). Estudos realizados por Sant'Anna-Santos (2006b) com plantas de pau d'alho (*Galesia integrifolia*) expostas à chuva ácida, em ambiente controlado, revelaram que os estômatos podem ser danificados e perder o controle dos movimentos, expondo ainda mais os tecidos internos da planta aos efeitos diretos da poluição.

Modificações na frequência e tamanho dos estômatos, como resposta aos estresses ambientais, são formas de controle sobre a absorção de poluentes pelas plantas. Segundo Alves e outros (2008), em folhas de *E. uniflora* L. expostas a poluentes primários, ocorre aumento na densidade estomática. Em folhas de *Lotus corniculatus* L., *Trifolium montanum* L., *T. pratense* L. e *T. repens* expostas a poluentes, o tamanho dos estômatos diminui bastante, sendo que, nesta última espécie, o índice estomático aumenta em cerca de 20% (GOSTIN, 2009a).

A ocorrência de compostos fenólicos e tricomas, em plantas expostas a poluentes atmosféricos, também pode ser constatada por meio de observações de características anatômicas (ALVES e outros, 2001; SANT'ANNA-SANTOS e outros, 2006b; GOSTIN, 2009a; 2009b; PATHAK e PANCHOLI, 2014). Os compostos fenólicos podem se apresentar como deposições escuras na epiderme, mesofilo e tecidos vasculares. Segundo Gostin (2009a), exposição de plantas a poluentes, por longo prazo, leva ao acúmulo desses compostos, que se oxidam em contato com o oxigênio, causando necrose nos tecidos (CASAGRANDE JR e outros, 1999).

A presença de cristais de oxalato de cálcio em espécies vegetais, normalmente, é relacionada à adaptação dos vegetais à herbivoria, ao balanço iônico (FAHEED e outros, 2013) e ao desenvolvimento do tubo polínico (NAVARRO e outros, 2007). Mas, o aumento da quantidade desses cristais também pode ser consequência de estresses ambientais, devido à exposição a poluentes (GUPTA e outros, 2017).

2.5 Influência das condições climáticas sobre a ação dos poluentes

Alguns estudos sobre biomonitoramento abordam a influência dos aspectos climáticos sobre a concentração e a ação dos agentes poluentes atmosféricos em relação aos vegetais. A radiação solar, por exemplo, causa reações entre gases e partículas atmosféricas cujos produtos podem ser tóxicos aos organismos vivos, inclusive aos seres humanos (HIJANO e outros, 2005), além de interferir na concentração de poluentes já existentes. A precipitação, por sua vez, pode funcionar como removedor de poluentes do ar, limpando a atmosfera ou mesmo as superfícies das folhas. Temperaturas mais baixas concentram os poluentes próximos da superfície terrestre, impedindo a sua dispersão para as camadas de ar superiores cujo efeito é denominado inversão térmica (MORAES e outros, 2002). Temperaturas mais altas facilitam a dispersão de poluentes; entretanto,

associado a altas radiações, o aquecimento potencializa as reações químicas próximas à superfície urbana, favorecendo as fontes de poluentes secundários, como o O₃ (MORAES e outros, 2002; PINA e outros, 2017).

As interações entre poluentes atmosféricos, fatores ambientais e seus efeitos sobre as plantas podem ser complexas. Os poluentes do ar podem alterar a resposta das plantas a estresses ambientais, muitas vezes acentuando-a (BELL e outros, 2017). Temperatura, umidade, intensidade da luz e características edáficas também podem intensificar injúrias nas plantas sujeitas aos poluentes, muitas vezes por meio de mudanças na abertura estomática (ESPOSITO e outros, 2009; BELL e outros, 2017; PINA e outros, 2017). No entanto, cada espécie vegetal responde de maneira peculiar à influência de fatores climáticos sobre os poluentes. Em tabaco (*Nicotiana tabacum*), temperaturas mais elevadas aumentam a sensibilidade ao O₃, devido à sua maior absorção, resultando em estresse oxidativo, com redução do ácido ascórbico e aumento das lesões foliares (ESPOSITO e outros, 2009).

No inverno, as concentrações de poluentes, como SO₂ e NO₂, tendem a aumentar na atmosfera, devido às inversões térmicas, que dificultam a sua dispersão (MORAES e outros, 2002; PRAJAPATI e TRIPATHI, 2008; BULBOVAS e outros, 2015). Segundo Whitmore e Freer-Smith (1982), o crescimento de gramíneas expostas a SO₂ e SO₂+NO₂ sofre redução expressiva durante o inverno e a primavera, mas tende a se recuperar no verão, quando as concentrações desses poluentes são menores. No entanto, Joshi e Swami (2007) detectaram a ocorrência de maiores concentrações de SO₂ e SO₂+NO₂ no verão, o que indica a necessidade de mais estudos sobre a relação entre as concentrações atmosféricas desses poluentes, a sazonalidade climática e os seus efeitos sobre as plantas.

Em relação ao O₃, a sua produção resulta de reações fotoquímicas na atmosfera, que envolvem NO_x, matéria orgânica e compostos orgânicos voláteis, sob condições de alta temperatura do ar, luz solar mais intensa e menor velocidade de ventos (BELL e outros, 2017).

O acúmulo de material particulado nas plantas pode variar em função das estações climáticas a que elas são submetidas. Os efeitos da poluição particulada emitida por uma fábrica de cimento sobre teca (*Tectona grandis*), uma árvore nativa de florestas tropicais do sudeste asiático, variam conforme a estação, sendo mais expressivos durante o verão e na época das monções (ANOOB e outros, 2017).

A influência climática também foi relatada em plantas de azevém italiano (*Lolium multiflorum*) expostas à poluição formada por NO_x, SO₂ e material particulado, nas quais os carboidratos totais tenderam a aumentar a sua concentração em tecidos foliares, principalmente nos meses mais quentes do ano, quando as temperaturas elevadas favorecem a alta concentração dos poluentes na atmosfera (SANDRIN e outros, 2008).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Para este estudo, realizaram-se três experimentos independentes, cada um deles envolvendo uma espécie vegetal bioindicadora, sendo duas perenes – *Mangifera indica* L., Anacardiaceae (mangueira) e *Psidium cattleianum* Sabine, Myrtaceae (araçá) – e uma anual, *Lolium multiflorum* Lam., Poaceae (azevém italiano). Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, constituído de dois tratamentos: (1) plantas cultivadas em área exposta às emissões de uma indústria mineradora; e (2) plantas cultivadas em área livre da influência da pluma formada por esses poluentes. Em cada tratamento, foram utilizadas 14 repetições. As plantas foram cultivadas em vasos, em ambiente não controlado, submetidas às condições meteorológicas naturais do campo. Nos experimentos com mangueira e araçá, utilizou-se uma planta por vaso; no experimento com azevém italiano, por se tratar de uma gramínea, foram cerca de 50 plantas por vaso.

Os experimentos iniciaram-se em outubro de 2015. Em relação à sua duração, definiram-se os períodos de um ano para as espécies perenes, e de nove meses para a espécie anual. No ano seguinte, os três experimentos foram repetidos, a fim de se observarem eventuais variações nas condições meteorológicas, em dois anos consecutivos, e seus possíveis efeitos sobre a dispersão de poluentes atmosféricos e o comportamento das plantas.

3.1. Caracterização da área experimental

As áreas em que os experimentos se desenvolveram localizam-se no município de Brumado - BA, no sudoeste da Bahia, a aproximadamente 540 Km de Salvador, onde o clima é considerado seco, do tipo BSh, segundo a classificação de Köppen. A temperatura média é de 23,8 °C, com variação de 4,1 °C durante o ano (CLIMATE, 2018). O regime de chuvas é marcado por escassez e irregularidade, com precipitações mais concentradas entre outubro

e janeiro (INMET, 2018). A pluviosidade média anual é de 590 mm, com diferença de 128 mm de precipitação entre o mês mais seco e o mais chuvoso.

Os experimentos foram conduzidos em duas áreas localizadas no entorno de uma indústria mineradora. A Área 1 (tratamento 1) situa-se em localidade exposta à pluma formada pelos poluentes atmosféricos cujas coordenadas são S 14°14'36,1" WO 41°44'40,3". A Área 2 (tratamento 2), cujas coordenadas são S 14°13'37,8" WO 41°43'08,6" é livre da influência da pluma desses poluentes, devido à direção dos ventos, que impede a dissipação das emissões atmosféricas oriundas do processamento industrial até esta localidade (Figura 1). Para a escolha dessas áreas, levou-se em consideração um relatório técnico sobre estudo de dispersão de poluentes atmosféricos (material particulado, SO₂ e NO_x) na região do entorno do empreendimento industrial, por meio de modelamento matemático, realizado por uma empresa de engenharia de segurança do trabalho e meio ambiente (SEGMA, 2010). A distância entre as duas áreas experimentais é de aproximadamente 3,5 Km.

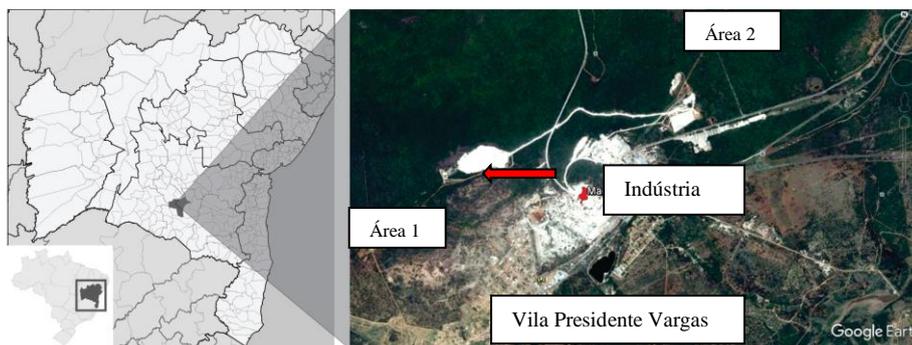


Figura 1. Localização das áreas experimentais. Indústria Mineradora, Brumado, Bahia, Brasil. A seta indica a direção dos ventos.
Fonte: Google Earth.

3.2. Obtenção das espécies bioindicadoras e procedimentos de semeadura e plantio

Alguns critérios foram levados em consideração, para a definição e escolha das espécies bioindicadoras. Há estudos que demonstram, por exemplo, que *Lolium multiflorum* é um importante bioindicador para SO₂ (ASHENDEN e WILLIANS, 1980; KLUMPP e outros, 2009, RODRIGUES e RAIA-RODRIGUEZ, 2012).

Psidium cattleianum Sabine é uma espécie nativa da região, além de ser também cultivada em outras lugares do país, e é reconhecida como bioindicadora para gases como SO₂ e NO_x (MORAES e outros, 2002), além de outros poluentes (MORAES e outros, 2002; 2004; FURLAN e outros, 2007; PERRY e outros, 2008; TRESMONDI e ALVES, 2011; PINA e outros, 2017). Tanto *L. multiflorum* como *P. cattleianum* são espécies bioacumuladoras de poluentes (BULBOVAS e outros, 2015; NAKAZATO e outros, 2016).

Mangifera indica L. é largamente utilizada em programas de biomonitoramento, inclusive envolvendo SO₂ (LIMA e outros, 2000; KLUMPP e outros, 2003; PRAJAPATI e TRIPATHI, 2008; MONDAL e outros, 2011; PATHAK e PANCHOLI, 2013), além de ser uma espécie de importância econômica para região.

As sementes de *Lolium multiflorum* Lam. foram adquiridas junto à empresa “Cirão Sementes”, localizada em Curitiba-PR. Em relação às espécies *M. indica* e *P. cattleianum*, as mudas com idade de 60 dias foram adquiridas em viveiros registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, localizados em Livramento de Nossa Senhora (BA) e em Apucarana (PR), respectivamente. Ao chegarem à cidade de Brumado, foram mantidas em viveiro local durante 15 dias, para se adaptarem às condições climáticas locais. Em data comum (27/10/2015), teve início o período experimental nas três espécies, que se caracterizou por: (1) semeadura de *L. multiflorum* em vasos de 16 L, os quais foram instalados nas duas áreas experimentais; e (2) transplântio das mudas de *P. cattleianum*

e *M. indica* em vasos de 50 L, também instalados nas duas áreas experimentais.

Os vasos foram previamente preenchidos com solo coletado no perfil natural de maior ocorrência na região, destorroado, passado em peneira com malha de 4 mm e homogeneizado. Em seguida, três amostras de solo foram coletadas para determinação das suas características químicas e físico-hídricas. Nas análises químicas, determinaram-se os teores de P disponível, K, Ca, Mg, Na, Al trocável, H+Al, matéria orgânica e micronutrientes, bem como saturação de bases, CTC efetiva e pH. Nas análises físico-hídricas, a densidade do solo, a textura, a retenção de umidade e a porosidade foram determinadas conforme EMBRAPA (1979).

Nas duas áreas experimentais, os vasos foram dispostos sobre o solo, em espaçamento 2 x 2 m (Figura 2), ocupando uma área total de 815 m² (22 m de largura x 37 m de comprimento). As plantas foram irrigadas diariamente, por meio de mangueira, com suprimento de água suficiente para deixar o solo próximo à saturação, a fim de evitar riscos de estresse hídrico. Perfurações na base dos vasos asseguraram a drenagem necessária.



Figura 2. Vasos com as espécies bioindicadoras *Psidium catleianum*, *Mangifera indica* e *Lolium multiflorum*, distribuídos em uma das áreas (Área 1) onde os experimentos foram realizados.

3.3 Cronograma de avaliações

Para observar o comportamento durante o verão, as plantas foram avaliadas nos meses de fevereiro e março; para observações relativas ao inverno, avaliações foram feitas nos meses de julho, agosto e setembro. Nas duas estações, para cada mês supracitado, as avaliações corresponderam a análises não destrutivas sobre características morfofisiológicas referentes à altura e ao Índice SPAD (estimativa do teor de clorofila).

As características consideradas “destrutivas” consistiram na verificação da área foliar total, número de folhas, massa seca de raiz e parte aérea, avaliações bioquímicas de quantificação de clorofila e açúcares, além de avaliações anatômicas, tais como contagem de estômatos, cavidades secretoras, presença de tricomas e substâncias fenólicas e Índice de Fitotoxicidade foliar. Estas foram realizadas ao final do experimento, somente no período de julho a setembro, levando-se em conta os prazos estabelecidos para o encerramento de cada experimento – o de *L. multiflorum* italiano, aos nove meses, e os de *P. cattleianum* e *M. indica*, aos 11 meses, respectivamente, após o início do período experimental.

3.4 Características avaliadas

Foram avaliadas algumas respostas fisiológicas e anatômicas das plantas a possíveis efeitos causados pelas concentrações de NO_x e SO₂ presentes na pluma de poluentes emitidos pelo beneficiamento do mineral magnesita. O critério definido para a escolha das características a serem avaliadas baseou-se na sua relação com o crescimento das plantas em intervalos de tempo estabelecidos para cada bioindicador, conforme definido anteriormente.

As avaliações foram classificadas como “não destrutivas” – quando o método de avaliação não acarreta qualquer dano físico (corte, coleta, maceração ou secagem) ou químico a partes da planta ou à planta inteira; e

“destrutivas”, isto é, quando é necessário remover partes de planta ou a planta inteira, ou envolve danos físicos ou químicos irreversíveis ao material vegetal a ser examinado.

3.4.1 Avaliações morfológicas e fisiológicas não destrutivas

Estas avaliações iniciaram-se aos 120 dias após o início do período experimental, e foram realizadas nos meses de fevereiro e março (verão) e de julho a setembro (inverno).

3.4.1.1 Altura média de plantas

A altura das plantas foi aferida por meio de trena, considerando-se o comprimento entre a base do colo e o ápice do caule. No que se refere ao *L. multiflorum*, considerou-se o comprimento entre a base do afilho até a extremidade da folha de maior comprimento (Figura 3).

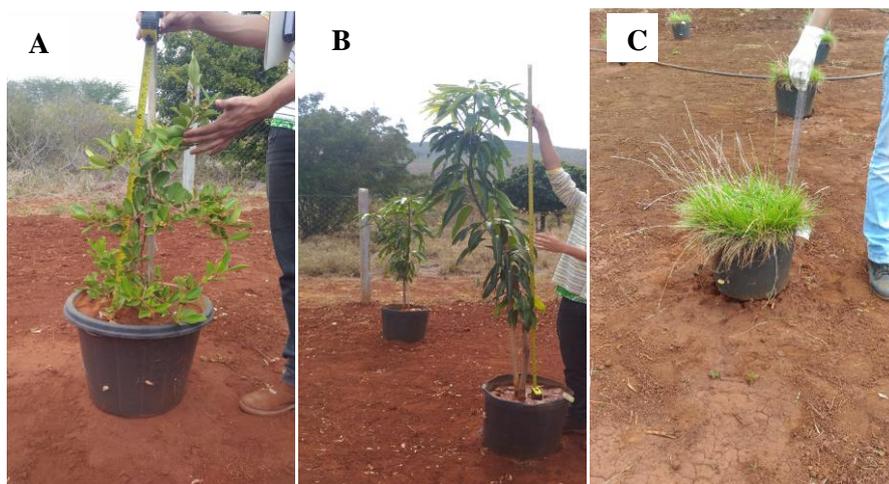


Figura 3. Aferição da altura de plantas de *Psidium. cattleianum* (A), *Mangifera indica* (B) e *Lolium multiflorum* (C).

3.4.1.2 Índice SPAD – estimativa do teor de clorofila

A estimativa do teor de clorofilas foi feita por meio de clorofilômetro (Minolta, modelo SPAD/502), em que a aferição baseia-se na intensidade de cor verde, constituindo o que passou a ser denominado “Índice SPAD”. Considerou-se o Índice SPAD como resultante da média aritmética de três aferições, realizadas em folha completamente expandida e fisiologicamente madura, localizada na porção mediana da copa. Em plantas de *L. multiflorum*, afilhos inteiros foram considerados como referência para a aferição do Índice SPAD.



Figura 4. Estimativa do teor de clorofila (Índice SPAD).

3.4.2 Avaliações morfológicas, fisiológicas e bioquímicas por métodos destrutivos

Estas avaliações realizaram-se somente em material vegetal coletado no final dos períodos experimentais determinados para cada espécie bioindicadora, ou seja, aos 255 e 328 dias após o início dos experimentos com *L. multiflorum* e com *P. cattleianum* e *M. indica*, respectivamente. Para tanto, os vasos com as plantas foram retirados das áreas experimentais e acondicionados em veículo apropriado, a fim de serem transportados para

Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, em Vitória da Conquista (cerca de 130 Km de Brumado). Depois de removidas dos vasos, as plantas foram submetidas a avaliações morfológicas, fisiológicas e bioquímicas, no laboratório de Fisiologia Vegetal.

3.4.2.1 Número de folhas, área foliar total e massa seca

Ao final do período experimental estabelecido para cada espécie bioindicadora, as plantas foram removidas dos vasos e separadas em folhas, caule e raízes. Para a limpeza das raízes, utilizou-se água corrente em abundância, com o cuidado necessário para se evitar perda de material vegetal.

Nos experimentos com *P. cattleianum* e *M. indica*, a verificação do número de folhas baseou-se na contagem simples do número total de folhas por planta. Para obter-se a área foliar total de cada planta, utilizou-se o medidor de área foliar Área Meter (LICOR, modelo LI-3100).

No experimento com *L. multiflorum*, devido à morfologia das plantas e ao grande número de plantas e folhas em cada vaso, foi feita uma estimativa do número de folhas e da área foliar total. Em cada vaso, tomou-se como referência uma amostra de 15 folhas coletadas aleatoriamente, verificando-se, inicialmente, a sua área foliar. Em seguida, essa amostra passou por secagem em estufa com circulação forçada de ar, a 70 °C por 48 h, para a obtenção da sua massa seca, utilizando-se balança de precisão. Por último, verificou-se a massa seca de todas as folhas em cada vaso. Por regra de três, obtiveram-se o número de folhas e a área foliar total em cada vaso.

Para a obtenção da massa seca de raízes e caule, utilizou-se também a estufa com circulação forçada de ar cujos procedimentos de secagem e posterior pesagem do material vegetal seco foram idênticos ao realizado com as folhas.

3.4.2.2 *Extração e quantificação dos teores de pigmentos fotossintéticos*

Inicialmente, foram extraídos os pigmentos – clorofilas *a* e *b*, e carotenoides – em folhas adultas e completamente expandidas, localizadas no terço médio de cada planta. Nos experimentos com *P. cattleianum* e *M. indica*, amostras de 10 discos foram coletadas do limbo foliar, com o auxílio de um perfurador. No experimento com *L. multiflorum*, padronizou-se a coleta de 0,5 g de folhas, já que o seu formato muito estreito inviabiliza a coleta dos discos foliares. A massa fresca dos tecidos foliares oriundos dos três experimentos foi aferida em balança de precisão, imediatamente após a sua coleta.

Para a extração dos pigmentos, as folhas foram maceradas em almofariz, utilizando-se acetona a 80% (v/v) como extrator, conforme Arnon (1949). Após a filtragem, as soluções foram completadas a 25 mL, conforme Amarante (2009), e levadas ao espectrofotômetro para leituras a 663, 647 e 470 nm e quantificação dos teores de clorofila *a* e *b*, e carotenoides, respectivamente. Todo o processo foi realizado em ambiente escuro, iluminado apenas por luz verde, a fim de evitar a foto-oxidação dos pigmentos (Figura 5).

Após a leitura em espectrofotômetro, os valores obtidos foram utilizados nas fórmulas abaixo, seguindo o modelo ajustado por Wellburn (1994). Os resultados foram expressos em mg do pigmento . g⁻¹ de massa fresca foliar.

$$\text{Clorofila } a = 12,25 A_{663} - 2,79 A_{647}$$

$$\text{Clorofila } b = 21,5 A_{647} - 5,1 A_{663}$$

$$\text{Carotenoides} = (1000 A_{470} - 1,82 C_a - 85,02 C_b) / 198$$

Onde: A = absorvância verificada em espectrofotômetro, conforme comprimento de onda específico para a leitura de cada pigmento; C_a = valor encontrado para Clorofila *a*; C_b = valor encontrado para Clorofila *b*.

3.4.2.3 Extração e quantificação dos teores de açúcares solúveis

Os teores de açúcares solúveis (AS) foram quantificados em extratos obtidos de folhas adultas, completamente expandidas, localizadas no terço médio de cada planta. Para a obtenção do extrato, utilizou-se, como extrator, 15 mL de solução tampão fosfato de potássio 0,1 M, adicionados a 200 mg de folhas secas, homogeneizadas e trituradas. O volume total do extrator foi dividido em três volumes iguais, para a realização de três centrifugações de 45 minutos, a 2.500 g. O sobrenadante final foi recolhido como extrato.

A quantificação dos teores de AS baseou-se no método da antrona, conforme descrição de Yemm e Willis (1954). Adicionou-se uma alíquota do extrato a 2 mL de antrona, completando com água deionizada até atingir o volume reacional de 3 mL, em recipiente mantido sob resfriamento. O volume da alíquota foi variável, a depender da espécie bioindicadora. O volume reacional foi então levado ao banho-maria, a 100 °C, por três minutos, com posterior resfriamento, para a realização das leituras espectrofotométricas a 620 nm. Os resultados foram expressos em mg de AS . g⁻¹ matéria seca.

3.4.2.4 Extração e quantificação dos teores de amido

A extração e a determinação do conteúdo de amido total foram realizadas em folhas adultas, conforme o método descrito por McCready e outros (1950), com adaptações. Na primeira etapa de extração, 6 mL de etanol fervente (60-70 °C) foram adicionados a 300 mg de folhas secas, homogeneizadas e moídas, seguidas de maceração, com posterior centrifugação a 2000 g, por 10 minutos. O sobrenadante foi recolhido e descartado. Esse processo foi repetido por mais duas vezes. Essa etapa visa à eliminação de açúcares solúveis, pigmentos, fenóis e outras substâncias

igualmente solúveis (AMARAL e outros, 2007). O precipitado passou por secagem em estufa a 65 °C por 24 h, até a evaporação completa do etanol. Em seguida, procedeu-se à suspensão desse precipitado com 1,75 mL de ácido perclórico 52% e 1,25 mL de água deionizada, deixando descansar por 30 minutos com posterior centrifugação (2000 g, por 15 minutos). Essa etapa foi repetida por mais duas vezes, a fim de solubilizar o amido presente no material. O sobrenadante foi coletado e transferido para recipientes de 25 mL, completando-se o volume com água deionizada ao final das centrifugações. Com base nesse extrato, os teores de amido foram quantificados pelo método fenol-sulfúrico, com a adição de 0,250 mL de fenol e 1,25 mL de ácido sulfúrico à alíquota, cujo volume foi variável, a depender da espécie. O conteúdo foi agitado e as leituras espectrofotométricas foram realizadas a 490 nm. Os resultados foram expressos em mg de amido . g⁻¹ matéria seca.

3.4.3 Características anatômicas

3.4.3.1 Índice de fitotoxicidade de necroses foliares

Ao fim de cada estação (verão e inverno), nos anos de 2016 e 2017, eventuais sintomas de necroses nas folhas dos experimentos com *P. cattleianum* e *M. indica* foram registrados por meio de uma câmera fotográfica digital Canon PowerShot A810. Para tanto, realizou-se a coleta e o registro fotográfico de uma folha de cada planta, e suas imagens foram posicionadas em igual escala no programa Power Point. Em seguida, realizou-se a coleta e o registro fotográfico de uma folha de cada planta, e suas imagens foram posicionadas em igual escala no programa Power Point. Após a sua impressão em papel A4 (21,0 x 29,7cm), os contornos das imagens das folhas e das partes necrosadas foram recortados, verificando-se as suas respectivas massas. As áreas de cada folha e das partes necrosadas foram obtidas por meio de regra de três, tomando-se como referência a

massa de uma folha de papel A4 inteira, cuja área é conhecida (623,7cm²). O índice de necrose foliar foi expresso em porcentagem de áreas necrosadas, em relação à área da folha correspondente.

No experimento com *L. multiflorum*, contudo, esta avaliação não pôde ser realizada porque as suas folhas são demasiadamente estreitas e enrolam-se quando removidas da planta, inviabilizando o adequado registro fotográfico e os demais procedimentos para se calcular o índice de fitotoxicidade de necroses foliares.

3.4.3.2 Processamento para anatomia vegetal

Amostras da lâmina foliar, obtidas na região da margem e da nervura principal, coletadas no terceiro nó da planta, nas duas estações (verão e inverno) em 2016, foram removidas com o auxílio de lâmina de barbear, e imediatamente fixadas em solução contendo glutaraldeído e paraformaldeído, em pH 7,2 (KARNOVSKY, 1965). Após a fixação, as amostras foram lavadas em água destilada e parcialmente desidratadas em série etílica até 70%, onde permaneceram estocadas para posterior inclusão (BERLYN e MIKSCHE, 1976). Onze amostras coletadas das folhas de *P. cattleianum* e *M. indica* foram reidratadas, para obtenção de cortes paradérmicos abaxiais à mão livre, com o auxílio de lâmina de barbear, que foram montados em lâmina com água destilada, para contagem dos estômatos. As amostras estocadas em etanol 70%, destinadas à inclusão, por sua vez, foram desidratadas em série etílica e infiltradas em resina glicol-metacrilado (Historesin® Leica). Os blocos de resina contendo as amostras foram seccionados ao micrótomo rotativo, obtendo-se cortes transversais seriados com 3 µm de espessura. Estes, em seguida, foram distendidos em água e montados em lâminas histológicas postas para secar ao ar. Após a secagem, uma lâmina por amostra foi reservada para branco, isto é, não submetida a qualquer coloração ou histoquímica para efeitos comparativos.

As demais lâminas foram submetidas a três técnicas de coloração e histoquímica, a saber:

Azul de Toluidina

Utilizado a 0,025% em tampão McIlvaine 0,1 M pH 4,0 (VIDAL, 1977). O Azul de Toluidina é um corante catiônico e, portanto, se liga a radicais aniônicos das células e tecidos. As lâminas contendo os cortes foram submetidas a esse corante, por 20 minutos, sendo posteriormente lavadas em água destilada e secas ao ar.

Sudan Black B

Utilizada a 1% em etanol 70% (JENSEN, 1962). Por sua natureza lipofílica, este corante é utilizado na evidenciação de lipídios totais, o que tem importância na análise da cutícula e inclusões lipídicas, podendo fornecer indícios importantes sobre as substâncias secretadas, bem como detalhes da morfologia da cutícula. As lâminas contendo os cortes foram submetidas ao corante, por 30 minutos, sendo, posteriormente, lavadas rapidamente em etanol 70%, em seguida em água destilada, e, finalmente, postas para secar ao ar.

Dicromato de potássio

Utilizado a 10% (GABE, 1968). Este método baseia-se na formação de um produto corado por condensação dos grupos hidroxila livres de compostos fenólicos, com o crômio do reagente, confirmando, ou não, o material que, geralmente, se cora de verde com o Azul de Toluidina, em pH 4,0. As lâminas contendo os cortes foram submetidas à solução de dicromato de potássio, por 30 minutos, sendo posteriormente lavadas em água destilada

e secas ao ar. O método tem por função observar a presença de compostos fenólicos nos tecidos.

3.4.3.3 *Análise e documentação fotográfica*

As observações dos cortes anatômicos e a aquisição de fotomicrografias foram realizadas em um fotomicroscópio (Leica DM750, Alemanha) com recurso de polarização e sistema de captura de imagens digitais (ICC50 HD, LAS EZ) equipado com recurso de luz polarizada.

3.4.3.4 *Densidade estomática e contagem de cavidades*

A densidade estomática foi aferida considerando-se o número de estômatos por unidade de área – neste caso, 1 mm². Para tanto, contaram-se os estômatos presentes nos cortes paradérmicos da epiderme abaxial das folhas de *M. indica* e *P. cattleianum* em fotomicrografias obtidas com a objetiva de 20X. Em cada fotomicrografia, foi feito um círculo de 0,1 mm² para realização da contagem, sendo necessários portanto 10 círculos por indivíduo, para obtenção da área de 1 mm². A contagem de cavidades foi realizada nos cortes transversais seriados e otimizados (LEITÃO, 2018), também observados com a objetiva de 20X, considerando-se toda a extensão do corte no campo de visão. Os campos com padrões de ampliação diferentes foram fotografados sem que houvesse sobreposição de campos.

3.4.3.5 *Medições anatômicas*

Foram realizadas medições da espessura (μm) do mesofilo, da epiderme e dos parênquimas paliçádico e lacunoso. Em *P. cattleianum*, mediu-se também a espessura da hipoderme, a fim de se verificarem possíveis diferenças na anatomia foliar das plantas, nos dois tratamentos. As fotomicrografias foram ajustadas a uma escala comum às imagens. As medições foram feitas por comparação à fotomicrografia de uma régua

micrométrica, também na mesma escala, com o uso do programa Power Point (LEITÃO, 2017).

3.5 *Análise estatística*

Todas as médias dos resultados obtidos nas duas áreas foram testadas quanto à sua normalidade (teste de Lilliefors) e homogeneidade (teste de Cochran e Bartlet) por meio do Programa SAEG (Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas), versão 9.1 (2007) e comparadas pelo teste t ($p \leq 0,05$). Quando necessário, os dados foram transformados, usando $\log x$.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Dados meteorológicos da região

Os dados meteorológicos (precipitação, temperatura, umidade e radiação) registrados no município de Brumado, no período de realização dos experimentos, nos anos de 2016 e 2017, estão representados na Figura 5.

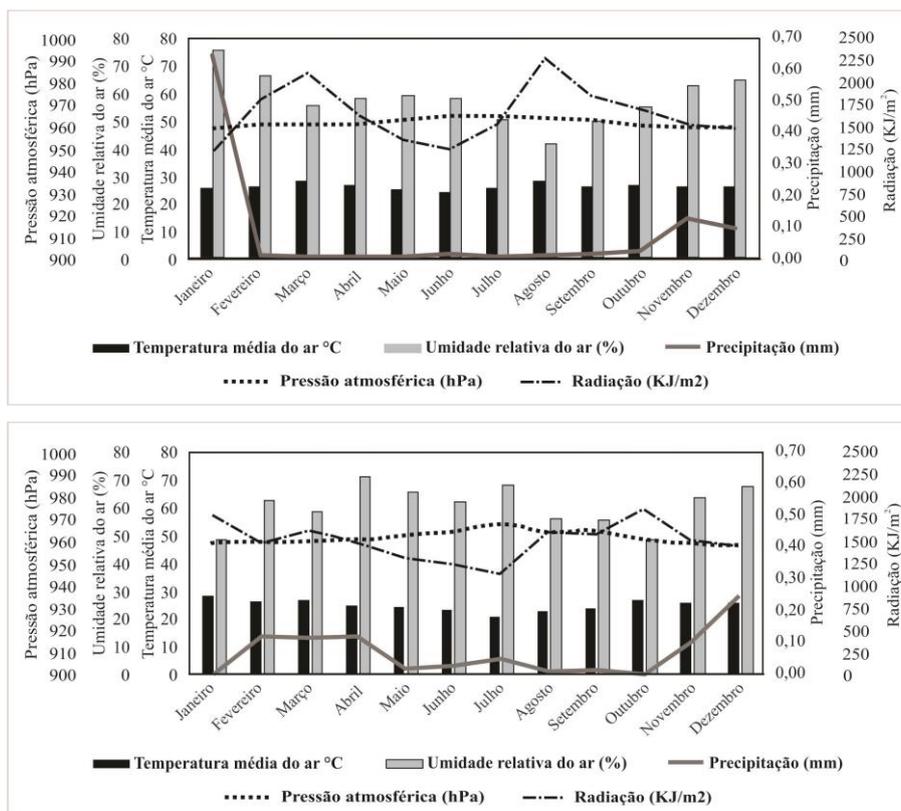


Figura 5. Dados sobre temperatura média, umidade relativa do ar, precipitação, pressão atmosférica e radiação no município de Brumado, Bahia, nos anos 2016 e 2017.

Fonte: INMET.

Alguns poluentes, como SO_2 , NO_x , O_3 e material particulado, são influenciados por variações na temperatura, precipitação, umidade relativa do ar e radiação, podendo reduzir ou intensificar os seus efeitos sobre seres

vivos e plantas (JOSHI e SWAMI, 2007; BARCELOS e outros, 2009; BULBOVAS e outros, 2015, ANOOB e outros, 2017).

Geralmente, as maiores concentrações de poluentes – à exceção do ozônio – ocorrem durante a estação seca, quando há baixa pluviosidade e maior porcentagem de ventos leves (BULBOVAS e outros, 2015).

No ano de 2016, as condições menos favoráveis à dispersão de poluentes, tais como maior radiação e temperatura, podem ter contribuído para o aumento das reações químicas de formação de poluentes secundários, além de intensificar os seus efeitos sobre as plantas. Além disso, períodos mais úmidos e com precipitações nos meses que antecederam as avaliações de 2017 podem ter contribuído para reduzir a concentração de poluentes na atmosfera e nas superfícies foliares, amenizando os seus efeitos sobre as plantas.

Nos dois anos correspondentes ao período de realização dos experimentos, precipitação e radiação foram os fatores meteorológicos que mais sofreram alterações.

4.2 Características morfológicas e fisiológicas

4.2.1 Altura de plantas, área foliar, número de folhas e massa seca

A altura das plantas foi afetada em diferentes formas pela sua exposição à pluma de poluentes. Os efeitos sobre a altura se manifestaram tanto na inibição como na promoção do crescimento, em intensidades variáveis, a depender do ano, da estação em cada ano, e da espécie bioindicadora.

No experimento com *Psidium cattleianum*, durante o ano de 2016, as plantas expostas à pluma de poluentes tiveram o seu crescimento em altura inibido a partir do 5º mês após o plantio (março), cuja diferença em relação às plantas da área de referência manteve-se até o final do período experimental. No ano seguinte, contudo, não houve diferença entre os

tratamentos, em relação a esta característica (Tabela 1). Em plantas de *Lolium multiflorum* expostas à pluma de poluentes, constatou-se inibição do crescimento em altura em todas as avaliações realizadas no ano de 2016. No ano seguinte, entretanto, esse efeito só se tornou perceptível no final do período experimental. No experimento com *Mangifera indica*, não houve diferença em relação à altura das plantas, entre os tratamentos, durante o ano de 2016. No ano seguinte, contudo, verificou-se efeito oposto ao que se manifestou nas duas outras espécies, ou seja, a exposição à pluma de poluentes promoveu o crescimento em altura das plantas, nas avaliações realizadas em todas as épocas do ano.

Tabela 1: Altura média de plantas de *Psidium cattleianum*, *Lolium multiflorum* e *Mangifera indica* nos anos de 2016 e 2017, em diferentes épocas em cada ano. R = área de referência (livre de poluentes); P = área exposta à pluma de poluentes. Em cada mês do ano, para cada espécie bioindicadora, letras iguais na mesma linha indicam que os tratamentos não diferem entre si, de acordo com o teste *t* ($p \leq 0,05$).

Época de avaliação	Altura média de plantas (cm)					
	<i>Psidium cattleianum</i>		<i>Lolium multiflorum</i>		<i>Mangifera indica</i>	
	R	P	R	P	R	P
2016						
Fevereiro	58,79 a	54,93 a	24,60 a	22,30 b	86,60 a	81,57 a
Março	63,21 a	57,14 b	25,40 a	22,70 b	105,10 a	98,90 a
Julho	70,50 a	60,21 b	21,36 a	18,50 b	134,93 a	131,50 a
Agosto	71,50 a	60,79 b	-	-	136,86 a	133,00 a
Setembro	75,79 a	62,71 b	-	-	158,00 a	154,86 a
2017						
Fevereiro	62,64 a	68,21 a	23,00 a	21,71 a	65,00 b	75,29 a
Março	64,50 a	69,79 a	21,21 a	19,79 a	73,43 b	94,21 a
Julho	65,07 a	69,36 a	26,79 a	24,07 b	83,86 b	105,50 a
Agosto	67,36 a	71,64 a	-	-	84,21 b	109,07 a
Setembro	68,14 a	72,36 a	-	-	96,00 b	111,14 a

A inibição do crescimento é um indicador dos efeitos nocivos da poluição atmosférica sobre as plantas cuja causa pode ser atribuída a concentrações excessivas de gases na atmosfera, tais como SO₂ e NO_x (DE TEMMERMAN e outros, 2001). Estudos revelam que esses dois gases,

quando atuam conjuntamente, podem amplificar os seus efeitos sobre as plantas, causando injúrias foliares e a inibição de processos fisiológicos importantes para o crescimento, tais como fotossíntese e transpiração (ASHENDEN e WILLIAMS, 1980; SILVA e outros, 2013).

Apesar de a emissão conjunta de SO₂ e NO_x na atmosfera, em geral, ser agente causador de efeitos deletérios sobre as plantas, o comportamento observado neste estudo em relação ao crescimento em altura de *M. indica* sugere que esta espécie atua como bioindicador tolerante aos efeitos da poluição, com mecanismos de defesa mais eficientes, confirmando ao que já reportaram Lima e outros (2000) e Swami e Chauhan (2015).

A exposição das plantas à pluma de poluentes causou efeitos contrastantes em relação à área foliar e ao número de folhas, a depender da espécie bioindicadora (Tabelas 2 e 3). Durante o ano de 2016, nos experimentos com *P. cattleianum* e *L. multiflorum*, a área foliar e o número de folhas nas plantas expostas à pluma foram menores que nas plantas da área de referência. Em *P. cattleianum*, a diferença entre os tratamentos foi bastante expressiva, registrando reduções de 89,32% e 84,89% na área foliar e no número de folhas, respectivamente, nas plantas expostas à pluma de poluentes. Em *L. multiflorum*, a redução na área foliar (56,59%) foi mais expressiva do que a redução no número de folhas (38,73%), sugerindo que o efeito da pluma de poluentes pode ter levado à formação de folhas menores e mais estreitas.

Tabela 2: Área foliar total, número de folhas e massas secas de raízes, folhas e caules, em plantas de *Psidium cattleianum*, *Lolium multiflorum* e *Mangifera indica* avaliadas ao final do primeiro ano do experimento (2016). R = área de referência (livre de poluentes); P = área exposta à pluma de poluentes. Em cada espécie, letras iguais na mesma linha indicam que os tratamentos não diferem entre si, de acordo com o teste t ($p \leq 0,05$).

Característica avaliada	Valores médios					
	<i>Psidium cattleianum</i>		<i>Lolium multiflorum</i>		<i>Mangifera indica</i>	
	R	P	R	P	R	P
Área foliar total (cm ²)	2,33 a *	1,33 b *	12.781,9 a	5.549,0 b	13.891,1b	16.420,4 a
Número de folhas	(226,90)	(24,24)	4.808,2 a	2.945,8 b	257,45 b	373,1 a
Massa seca de raízes (g)	1,56 a *	0,83 b *	57,5 a	24,7 b	155,67 a	178,1 a
Massa seca de folhas (g)	(38,39)	(7,33)	75,9 a	41,6 b	196,96 b	254,9 a
Massa seca de caule (g)	1,60 a *	0,42 b *	-	-	299,05 a	305,5 a
	(43,62)	(3,08)				
	1,56 a *	1,09 b *				
	(37,74)	(12,76)				

* Dados transformados em \log_x (SAEG, 2007). Os dados originais estão entre parênteses.

Tabela 3: Área foliar total, número de folhas e massas secas de raízes, folhas e caules, em plantas de *Psidium cattleianum*, *Lolium multiflorum* e *Mangifera indica* avaliadas ao final do segundo ano do experimento (2017). R = área de referência (livre de poluentes); P = área exposta à pluma de poluentes. Em cada espécie, letras iguais na mesma linha indicam que os tratamentos não diferem entre si, de acordo com o teste t ($p \leq 0,05$).

Característica avaliada	Valores médios					
	<i>Psidium cattleianum</i>		<i>Lolium multiflorum</i>		<i>Mangifera indica</i>	
	R	P	R	P	R	P
Área foliar total (cm ²)	1.149,99 a	640,10 b	3.693,40 a	2.740,4 b	6.559,7a	6.028,9 a
Número de folhas	153,00 a	86,00 b	5.064,61 a	5.693,2 a	169,5a	117,3 a
Massa seca de raízes (g)	34,06 a	30,57 a	98,00 a	65,0 b	130,1 b	256,7 a
Massa seca de folhas (g)	16,50 a	10,75 b	91,67 a	88,3 a	101,9 a	107,8 a
Massa seca de caule (g)	25,50 a	18,24 b	-	-	140,0 b	220,6 a

Nos experimentos realizados em 2017, novamente ocorreu redução na área foliar em plantas de *P. cattleianum* e *L. multiflorum* expostas à pluma de poluentes, embora a diferença entre os tratamentos tenha sido menos expressiva que no ano anterior. Em relação ao número de folhas, no segundo ano, repetiu-se o efeito inibidor da pluma de poluentes sobre as plantas de *P.*

cattleianum, como verificado no ano anterior. Em *L. multiflorum*, contudo, o número de folhas não foi diferente entre os tratamentos.

Em relação ao experimento com *M. indica*, em 2016, a área foliar e o número de folhas foram maiores nas plantas expostas à pluma de poluentes do que nas plantas da área de referência, revelando efeito contrário ao que ocorreu nas demais espécies bioindicadoras. No ano seguinte, contudo, quando esse experimento foi repetido, não houve diferença significativa entre os tratamentos, em relação à área foliar e ao número de folhas.

A área foliar é considerada como indicador importante da produtividade das plantas. Em geral, o principal fator relacionado à redução no crescimento de plantas sujeitas à influência de poluentes atmosféricos é a diminuição da fotossíntese, devido à redução na área foliar, entre outros fatores (AGRAWAL e outros, 2003; PANDEY, 2005). Estudos sobre poluentes emitidos por uma fábrica de fertilizantes em Udaipur, Índia, confirmaram o seu efeito fitotóxico em plantas jovens de goiabeira (*Psidium guajava* L.), em uma espécie arbustiva (*Carissa carandas* L.) e em uma espécie arbórea (*Cassia fistula* L.) (PANDEY, 2005).

Por outro lado, as respostas morfológicas em plantas de *M. indica* expostas à pluma de poluentes, que oscilaram entre a estabilidade e a promoção do aumento na área foliar e no número de folhas, corroboram a discussão dos resultados obtidos no presente estudo sobre o crescimento em altura. São respostas que podem ser interpretadas como confirmação de que esta espécie é considerada tolerante à poluição e podem estar associadas ao efeito de alguns poluentes liberados na atmosfera, que eventualmente atuam como fertilizantes para algumas espécies de plantas (MAUGH II, 1979). Não obstante, os resultados aqui obtidos divergem de estudos realizados com esta mesma espécie, na Índia, em que a área foliar foi menor em plantas expostas a poluentes (PANDEY e PANDEY, 1994; PATHAK e PANCHOLI, 2013).

Em relação à massa seca de raízes, folhas e caule, o desempenho das espécies, nos três experimentos, acompanhou, até certo ponto, as tendências manifestadas nas características morfológicas anteriormente discutidas nas

Tabelas 2, 3 e 4. Durante o ano de 2016, nos experimentos com *P. cattleianum* e *L. multiflorum*, as massas secas de todas as partes das plantas expostas à pluma foram menores que as das plantas da área de referência. Em *P. cattleianum*, a diferença entre os tratamentos foi bastante expressiva, sendo que, nas plantas expostas à pluma de poluentes, a maior redução na massa seca ocorreu nas folhas (92,94%) (Tabela 2). Em 2017, contudo, apesar de a influência negativa da pluma de poluentes sobre as massas secas de folhas e caule de *P. cattleianum* ter-se repetido, não houve diferença na massa seca de raízes entre os tratamentos (Tabela 3).

No experimento com *L. multiflorum*, em 2016, a massa seca nas plantas expostas à pluma de poluentes foi menor que nas plantas da área de referência, com destaque para as raízes, onde essa diferença foi mais expressiva (57,2%). Em 2017, a influência negativa da pluma de poluentes sobre a massa seca se repetiu nas raízes, mas não houve diferença nas folhas, entre os tratamentos.

No experimento com *M. indica*, em 2016, a massa seca das folhas foi maior nas plantas expostas à pluma de poluentes. A maior área foliar, bem como o maior número de folhas, pode ter contribuído para confirmar esse efeito positivo dos poluentes sobre a massa seca das folhas, o qual já havia sido constatado, neste estudo, em outras características morfológicas associadas ao crescimento. Em outras partes da planta, contudo, não houve diferença entre os tratamentos (Tabela 2). Em 2017, nas plantas expostas à pluma de poluentes, não houve diferença entre os tratamentos, no que se refere à massa seca das folhas, ao passo que, em raízes e caule, a massa seca foi maior que nas plantas da área de referência (Tabela 3).

4.2.2 Índice SPAD e teores de clorofila total

A exposição das plantas à pluma de poluentes causou efeitos contrastantes no índice SPAD, entre os tratamentos, conforme a espécie bioindicadora avaliada (Tabela 4).

Tabela 4: Índice SPAD de plantas de *Psidium cattleianum*, *Lolium multiflorum* e *Mangifera indica* avaliadas nos anos de 2016 e 2017. R = área de referência (livre de poluentes); P = área exposta à pluma de poluentes. Em cada época de avaliação, para cada espécie bioindicadora, letras iguais na mesma linha indicam que os tratamentos não diferem entre si, de acordo com o teste *t* ($p \leq 0,05$).

Época de avaliação	Índice SPAD					
	<i>Psidium cattleianum</i>		<i>Lolium multiflorum</i>		<i>Mangifera indica</i>	
	R	P	R	P	R	P
2016						
Verão	55,14 a	49,98 b	25,14 a	25,43 a	42,30 a	43,40 a
Inverno	53,96 a	36,69 b	29,83 a	25,54 b	45,90 b	50,70 a
2017						
Verão	44,14 a	45,02 a	27,27 a	29,66 a	37,37 a	38,70 a
Inverno	46,00 a	43,87 a	33,44 a	31,46 a	38,33 b	42,16 a

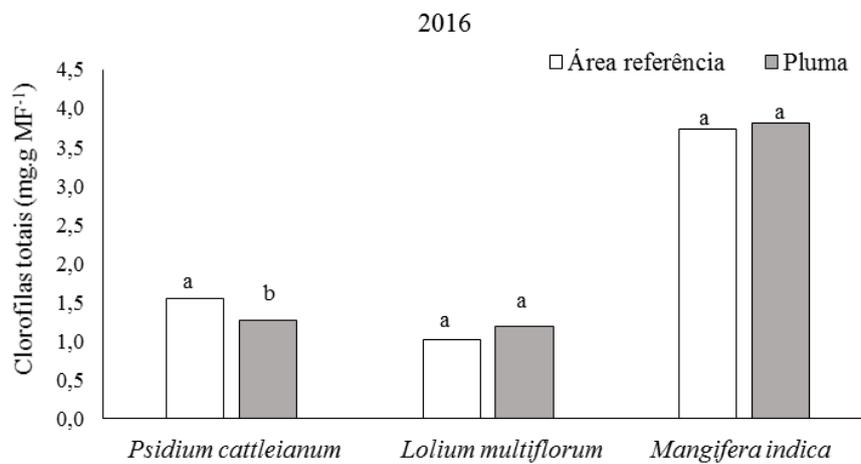
No experimento com *P. cattleianum*, durante o ano de 2016, nas plantas expostas à pluma de poluentes, o índice SPAD foi menor que nas plantas da área de referência. No segundo ano, contudo, não houve diferença entre os tratamentos. No experimento com *L. multiflorum*, no primeiro ano, o índice SPAD também foi afetado negativamente pela pluma de poluentes, mas esse efeito somente se manifestou nas avaliações realizadas no inverno, quando as plantas já se encontravam no final do seu ciclo biológico. Em 2017, não houve diferença entre os tratamentos. A redução no índice SPAD pode ser interpretada como uma consequência da exposição a poluentes, e tem relação direta com a produção e degradação de clorofilas (SILVA e outros, 2015).

No experimento com *M. indica*, a exposição das plantas à pluma de poluentes produziu efeito inverso ao registrado nas outras duas espécies bioindicadoras, isto é, o índice SPAD foi menor que nas plantas da área de referência. Nos dois anos experimentais, esse efeito somente se manifestou nas avaliações realizadas durante o inverno.

A avaliação dos teores de clorofilas, baseada na extração e quantificação desses pigmentos fotossintéticos em tecidos foliares (Figura

6), confirmou, em parte, os valores registrados anteriormente, pelo índice SPAD. Nos dois anos, os experimentos com *P. cattleianum* revelaram diminuição nos teores de clorofila total quando as plantas são expostas à pluma de poluentes. Em *L. multiflorum* e *M. indica*, contudo, nos dois anos, os teores de clorofilas não diferiram entre os tratamentos.

A radiação solar, no ano de 2016, apresentou picos no período de julho a setembro (inverno) que podem ter intensificado os efeitos dos poluentes, interferindo na diferença de clorofilas entre as três espécies, com maior degradação das mesmas em áreas expostas, diferentemente do que ocorreu no ano de 2017, em que tal radiação manteve valores mais baixos e estáveis.



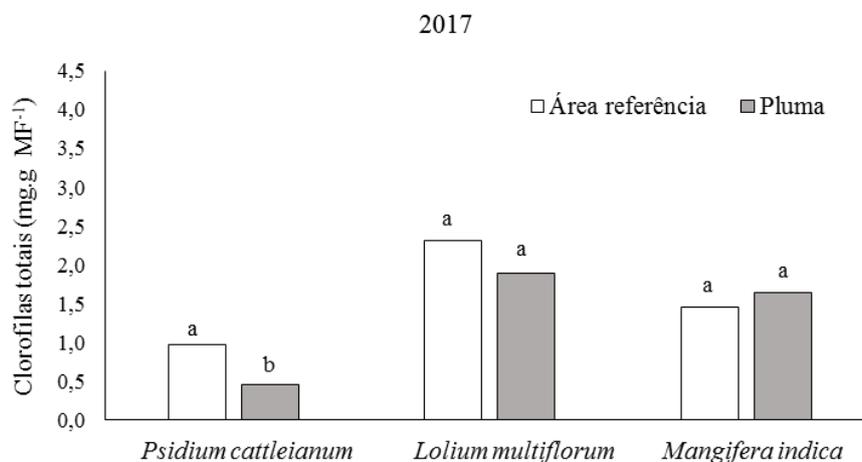


Figura 6. Teores de clorofilas totais em folhas de *Psidium cattleianum*, *Lolium multiflorum* e *Mangifera indica*, avaliados no final de cada ano (2016 e 2017) de realização dos experimentos. Em cada ano, para cada espécie, letras iguais indicam que os tratamentos não diferem entre si, de acordo com o teste t ($p \leq 0,05$).

As clorofilas são pigmentos importantes no processo fotossintético das plantas, participando dos processos de absorção de energia luminosa para posterior transformação da energia em ATP e poder redutor, os quais serão usados na produção de fotoassimilados. A redução gradual nos teores de clorofilas é uma reação das plantas à presença de poluentes atmosféricos cujo efeito geralmente se manifesta na forma de amarelecimento das folhas (clorose), acarretando redução na taxa fotossintética e em outras características associadas ao crescimento, tais como altura de plantas, área e número de folhas e massa seca (Tabelas 3, 4 e 5).

A degradação de clorofilas em plantas expostas à poluição atmosférica pode ser atribuída à acidificação de tecidos vegetais (STREIT e outros, 2005). Pode também ser causada pela ação de alguns poluentes, como SO_2 (RAO e LEBLANC, 1966; RABE e KREEB, 1980; BAMNIYA e outros, 2012) e HNO_3 (RIDELL e outros, 2012) que removem íons Mg^{2+} , convertendo-os a feofitina, ao invés de clorofila (QAYOOM MIR e outros,

2008). A formação da feofitina, portanto, tem relação direta com a perda da coloração verde nas folhas (STREIT e outros, 2005).

Na literatura, alguns estudos relatam a ação deletéria de agentes poluentes sobre os teores de pigmentos fotossintéticos em plantas. Rao e LeBlanc (1966) foram pioneiros em estudos sobre degradação de clorofilas em células de algas, influenciada por ambientes poluídos com SO₂. Em plantas de *Ficus religiosa* submetidas a elevadas concentrações de NO_x, SO₂ e material particulado, verificou-se redução nos teores de clorofilas *a* e *b* (CHAUAN, 2010). Folhas de *Azadirachta indica*, *Nerium oleander*, *Mangifera indica* e *Dalbergia sissoo*, submetidas a ambientes poluídos, também tiveram reduções significativas nos teores de clorofilas (GIRI e outros, 2013). Por outro lado, estudos realizados na Índia com *Thevetia neriiifolia*, *Mangifera indica* e *Psidium guajava* em diferentes áreas sujeitas à poluição urbana, como SO₂ e CO (PATIDAR e outros, 2016), ou em área industrial, com SO₂, NO₂ e material particulado (BAMNIYA e outros, 2012) demonstraram que pode haver aumento ou diminuição no teor de clorofilas, a depender da composição e concentração de poluentes na atmosfera. No presente estudo, a análise dos teores de clorofila total registrados em *M. indica* não apontou variação entre os tratamentos, em função da exposição à pluma de poluentes. Estes resultados divergem daqueles obtidos a partir da estimativa do teor de clorofilas, que indicaram aumento no índice SPAD em plantas expostas à pluma de poluentes. A diferença entre os dois métodos de avaliação de clorofilas pode ser justificada pelas características do clorofilômetro. Como a sua função é absorver *quanta* de luz incidente, espera-se que a medição da quantidade de radiação absorvida pela folha com o SPAD-502 resulte em uma boa estimativa do teor de clorofilas (AMARANTE, 2008). No entanto, o SPAD-502 tem limitações: em uma mesma espécie, pode haver grandes variações nesse índice, ocasionadas por diferenças edafoclimáticas, posição da folha na planta e espessura da folha (MARTINEZ e GUIAMET, 2004; JIFON e outros, 2005; AMARANTE e outros, 2008; 2009).

Em estudos realizados com plantas de *Citrus* sp. cultivadas a pleno sol, as folhas apresentaram-se mais espessas e com maiores Índices SPAD, diferentemente das plantas cultivadas em local sombreado (estufa), que apresentaram folhas menos espessas e os Índices SPAD não corresponderam à variação nos teores de clorofilas totais (JIFON e outro, 2005). Além disso, o nível de radiação no momento da leitura pode levar a variações nas leituras do SPAD (MARTINEZ e GUIAMET, 2004). Os cloroplastos, por sua vez, podem mudar a sua orientação nas células, em resposta ao nível de radiação incidente. Sob baixa radiação, os cloroplastos orientam-se ao longo das paredes celulares superiores e inferiores, perpendicular ao sentido de incidência da luz, diferentemente de quando estão sob alta radiação, em que os cloroplastos se posicionam principalmente ao longo das paredes verticais das células, paralelamente ao sentido de incidência da luz (MARTINEZ e GUIAMET, 2004; TAIZ e outros, 2017).

4.2.3 Teores de açúcares solúveis e amido

A análise dos teores de açúcares solúveis em folhas revelou que não houve diferenças significativas entre os tratamentos, nas três espécies bioindicadoras, nos dois anos de realização dos experimentos (Figura 7).

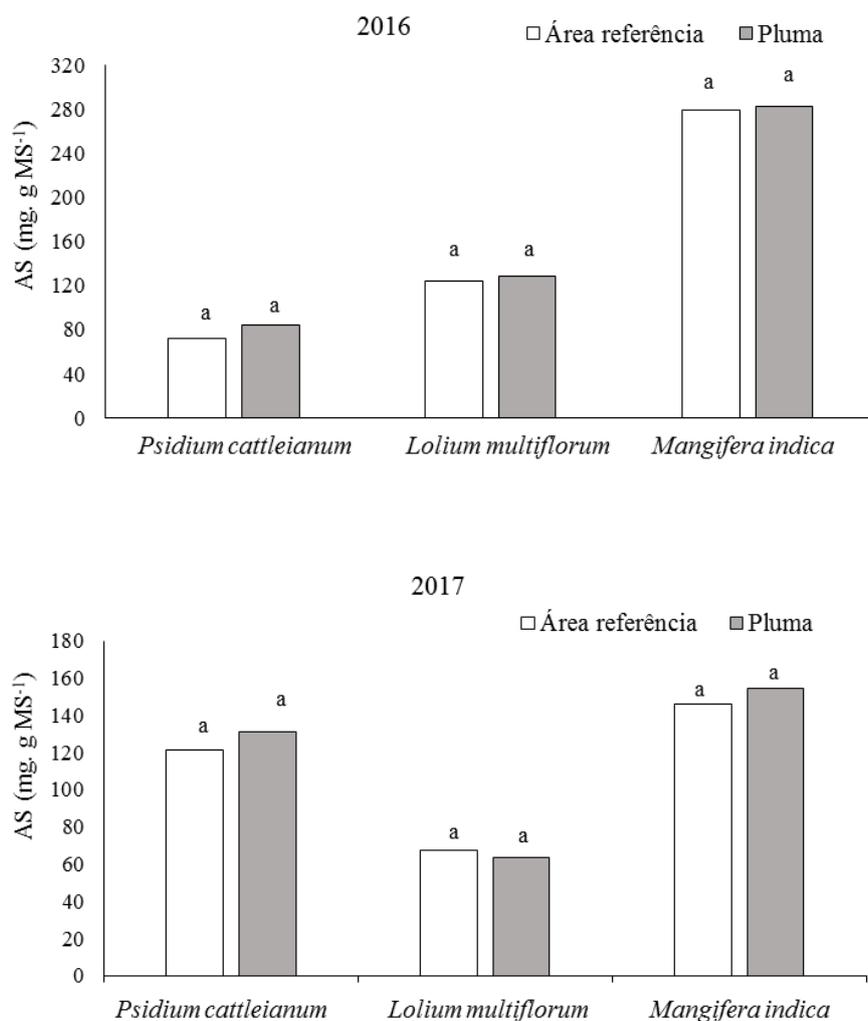


Figura 7. Teores de açúcares solúveis em folhas de *Psidium cattleianum* Sabine, *Lolium multiflorum* e *Mangifera indica* avaliados no final de cada ano de realização dos experimentos (2016 e 2017). Em cada espécie bioindicadora, letras iguais indicam que os tratamentos não diferem entre si, de acordo com o teste *t* ($p \leq 0,05$).

Os teores de amido em tecidos foliares de *P. cattleianum*, durante o ano de 2016, foram maiores nas plantas expostas à pluma de poluentes do que nas plantas da área de referência. Em *L. multiflorum*, não houve diferença entre os tratamentos. Em *M. indica*, por sua vez, no mesmo

período, os teores de amido foram menores nas plantas expostas à pluma de poluentes. No segundo ano, em 2017, os teores de amido não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos, nas três espécies bioindicadoras (Figura 8).

Açúcares solúveis são importante constituinte molecular orgânico e fonte de energia para todos os organismos vivos, e os seus teores em tecidos foliares devem ser analisados como resultantes da interação entre diferentes eventos fisiológicos. As trioses, que são produzidas durante a fotossíntese, podem seguir rotas metabólicas distintas, tais como a síntese de amido, para fins de armazenamento de reservas, ou a síntese de sacarose, que é exportada para suprir o restante da planta com carbono e energia (LUNN e MACRAE, 2013). Além disso, uma fração expressiva de açúcares solúveis é oxidada durante a respiração (TAIZ e outros, 2017).

Os açúcares solúveis não só atuam como recursos metabólicos e constituintes estruturais das células, mas também atuam como sinais que regulam vários processos associados ao crescimento e desenvolvimento da planta, modulando suas respostas metabólicas (ROSA e outros, 2009).

Alguns autores reportam que os poluentes atmosféricos podem influenciar, de diferentes formas, as principais rotas metabólicas que determinam os teores de açúcares solúveis, tais como a fotossíntese (AGRAWAL e DEEPAK, 2003), os metabolismos de síntese e hidrólise de amido e sacarose, e a atividade respiratória, através da oxidação de compostos orgânicos (SANDRIN e outros, 2008). Assim, além de serem indicadores da atividade fisiológica da planta, os teores de açúcares solúveis acabam determinando a sensibilidade das plantas à poluição do ar (RAI, 2016).

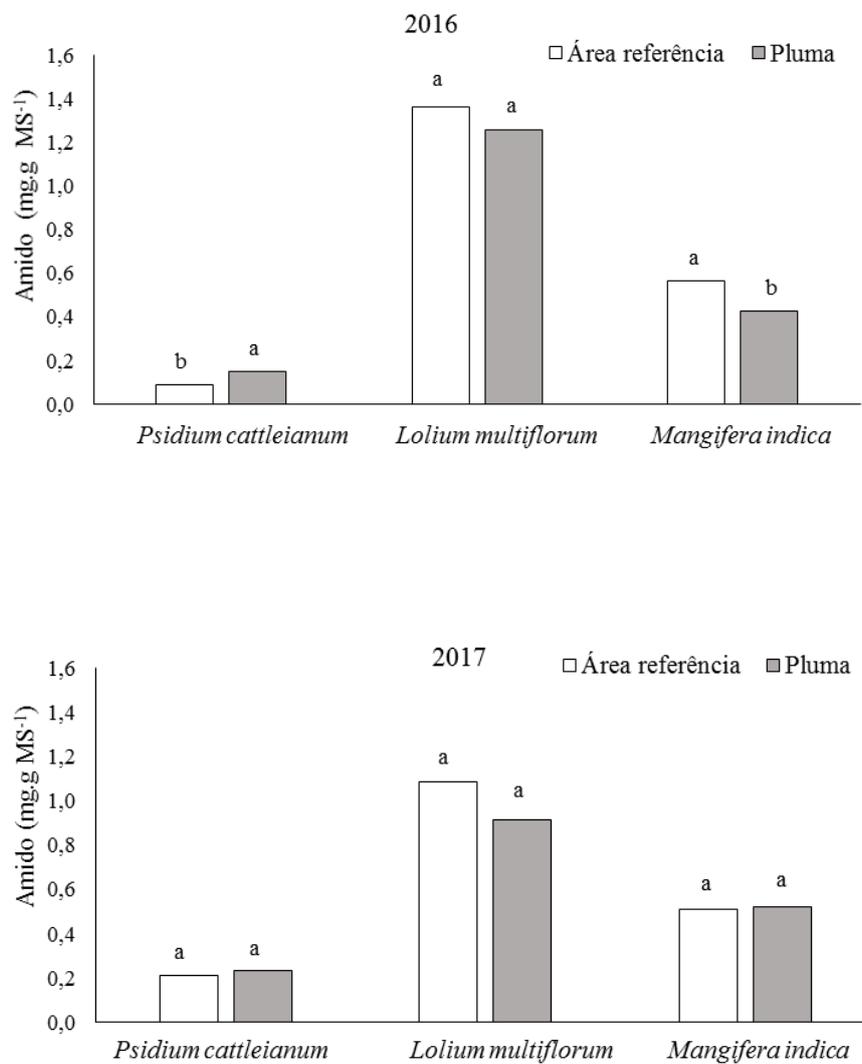


Figura 8. Teores de amido em folhas de *Psidium cattleianum*, *Lolium multiflorum* e *Mangifera indica* avaliados no final de cada ano de realização dos experimentos (2016 e 2017). Em cada espécie bioindicadora, letras iguais indicam que os tratamentos não diferem entre si, de acordo com o teste *t* ($p \leq 0,05$).

Na literatura, há relatos diferentes sobre a influência de poluentes atmosféricos nos teores de açúcares solúveis em plantas, devido à ocorrência de diferentes mecanismos de ação, associados à sensibilidade ou tolerância

da planta. A queda nos teores de açúcares solúveis, por exemplo, pode ocorrer devido à diminuição na taxa de fotossíntese ou ao aumento na demanda por energia (RAI e PANDA, 2015; SEN e outros, 2017). Segundo Muneer e outros (2014), poluentes atmosféricos como NO_x, SO₂ e CO exercem efeito inibidor sobre a fotossíntese em híbridos de morango, reduzindo os teores de açúcares solúveis. Sen e outros (2017) estudaram o comportamento fisiológico de 10 espécies arbóreas expostas à poluição atmosférica proveniente de uma área industrial na Índia. A queda nos teores de açúcares solúveis em tecidos foliares das plantas expostas à poluição, segundo esses autores, foi atribuída à redução nas taxas de fotossíntese e ao aumento nas taxas de respiração, para atender à demanda crescente por energia.

Por outro lado, em plantas expostas à poluição atmosférica, também pode ocorrer aumento nos teores de açúcares solúveis em folhas, como resultado da ação de algum possível mecanismo interno de proteção, associado ao maior conteúdo de pigmentos (SEYYEDNEJAD e outros, 2009), aumento da resistência (FIALHO e BÜCKER, 1996) e ajustes metabólicos, mediados pela alteração na expressão gênica, para ajudar melhorar a funcionalidade da planta (ROSA e outros, 2009). SANDRIN e outros (2008) atribuíram o maior acúmulo de carboidratos em *L. multiflorum* à forte associação com condições ambientais estressantes predominantes (alta concentração de NO_x, SO₂ e material particulado) em Congonhas, SP.

Mudanças nos teores de açúcares e amido em plantas sujeitas à poluição atmosférica foram interpretadas por Fialho e Bucker (1996) como “síndrome geral da adaptação”, na qual as plantas respondem a uma sequência de diferentes fases: "reação de alarme" caracterizada por uma vitalidade reduzida; "aumento na resistência", marcada pelo acúmulo de açúcares, com energia mais rapidamente disponível para permanecer sob estresse, em mecanismos de manutenção e reparo; e, por fim, quando o organismo não consegue se adaptar à continuidade do estresse, tem-se a "fase de exaustão", que culmina com a senescência prematura e a morte.

No presente estudo, apesar de não ter ocorrido variação nos teores de açúcares solúveis, houve alterações nos teores de amido. No experimento com *P. cattleianum*, no ano de 2016, os teores de amido nas plantas expostas à pluma de poluentes foram mais elevados que nas plantas da área de referência. Este estudo não contém avaliações que possam subsidiar a discussão deste efeito. Entretanto, admite-se que os poluentes podem ter exercido algum efeito inibidor sobre a hidrólise de amido nessas plantas, dificultando o suprimento de açúcares solúveis que são diretamente associados às demandas dos processos de crescimento. Esta é uma hipótese que pode ser considerada como uma das causas do menor desempenho das plantas desta espécie, em termos de crescimento, quando expostas à pluma de poluentes.

Em relação ao experimento com *M. indica*, em 2016, a queda nos teores de amido nas plantas expostas à pluma de poluentes não resultou em aumento nos teores de açúcares solúveis, apesar de a hidrólise de amido ser uma reação que tem como produto a glicose. Este resultado pode ter relação com o que se verifica eventualmente em algumas espécies, quando submetidas a condições estressantes, em que a necessidade de maior consumo de energia leva ao aumento na taxa respiratória (TZVETKOVA e KOLAROV, 1996; SEN e outros, 2017), exercendo maior controle sobre o acúmulo de açúcares solúveis decorrentes da hidrólise de amido em folhas.

4.3 Características morfoanatômicas

4.3.1 Índice de fitotoxicidade de necroses foliares

O índice de necrose foliar em *M. indica* e *P. cattleianum* foi maior nas plantas expostas à pluma de poluentes do que nas plantas da área de

referência, embora, no inverno, essa diferença não tenha sido significativa para *M. indica* (Figura 9).

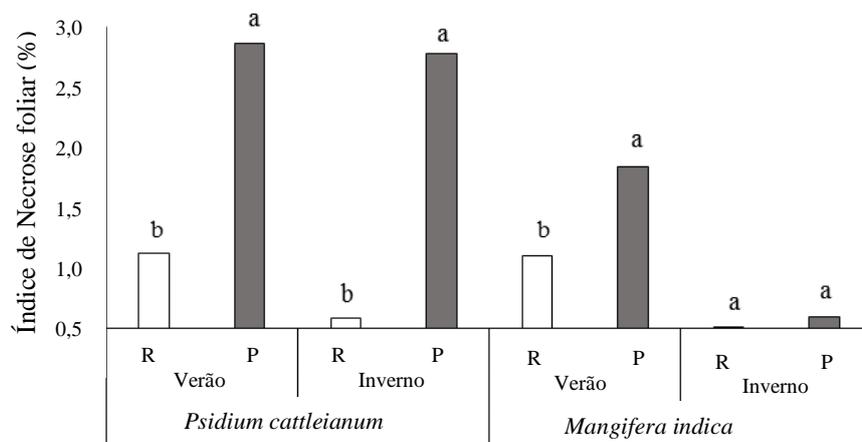


Figura 9. Índice de necrose foliar em *Psidium cattleianum* e *Mangifera indica*, em 2017. R = área de referência (livre de poluentes); P = área exposta à pluma de poluentes. Em cada espécie e dentro de cada estação, letras iguais indicam que os tratamentos não diferem entre si, de acordo com o teste *t* ($p \leq 0,05$).

As necroses foliares são injúrias comumente encontradas em plantas sujeitas à poluição atmosférica, cuja ocorrência é atribuída à ação deletéria de diversos poluentes, tais como flúor e óxidos de enxofre (MORAES e outros, 2002; AGRAWAL e outros, 2003; PRIYANKA e DIBYENDU, 2009; TRESMONDI e ALVES, 2011) e, principalmente, ao O₃ (DIAS e outros, 2007; FURLAN e outros, 2007; ESPOSITO e outros, 2009).

Em *P. cattleianum*, foram encontradas maiores diferenças no índice de necrose foliar entre os tratamentos do que em *M. indica* (Figura 10). Em espécies do gênero *Psidium* expostas a poluentes atmosféricos do complexo industrial de Cubatão, SP, sintomas de necrose foliar foram mais facilmente visíveis em *P. cattleianum* do que em *P. guajava* (MORAES e outros, 2002). Em outros estudos, o gênero *Psidium* tem sido relatado como sensível a

poluentes, manifestando injúrias visíveis em suas folhas (DIAS e outros, 2007; FURLAN e outros, 2007).



Figura 10. Manchas de aspecto necrótico em folhas de *Psidium cattleianum* (araçá) e *Mangifera indica* (manga) na área exposta à pluma de poluentes.

Sintomas de necrose típica também foram verificados em plantas de *Azadirachta indica*, *Phoenix dactilifera* e *Prosopis cineraria*, expostas ao SO_2 , entre outros gases liberados por uma refinaria, na Índia (ABDUL-WAHAB e YAGHI, 2004). Em geral, os efeitos do SO_2 no desenvolvimento de injúrias foliares são influenciados por fatores biológicos e ambientais, pelo tipo de planta e por sua combinação com outros poluentes, como o NO_2

(ABDUL-WAHAB e YAGHI, 2004; BULBOVAS e outros, 2015). Estudos realizados com plantas de *M. indica* expostas a esses dois poluentes, numa rodovia de grande tráfego automobilístico, revelaram o surgimento de necroses foliares, em formas de manchas acastanhadas, após o colapso do mesofilo (JOSHI e SWAMI, 2007). Embora não tenha sido verificado colapso no mesofilo ou necroses nos cortes anatômicos, o padrão de manchas acastanhadas a preto, também foi verificado na área de estudo, muitas vezes acompanhadas por cloroses.

4.3.2 Caracterização dos tecidos e densidade estomática

As folhas de *Psidium cattleianum* são hipoestomáticas, com epiderme simples em ambas as faces e mesofilo heterogêneo dorsiventral, tendendo a isobilateral (Figura 11). O parênquima paliçádico possui cerca de três camadas de células, e o lacunoso, cerca de seis camadas cujas células da camada inferior tendem a ser em paliçada (Figura 11). Os estômatos, nesta espécie, são dos tipos paracítico e anisocítico (Figura 15 e 16).

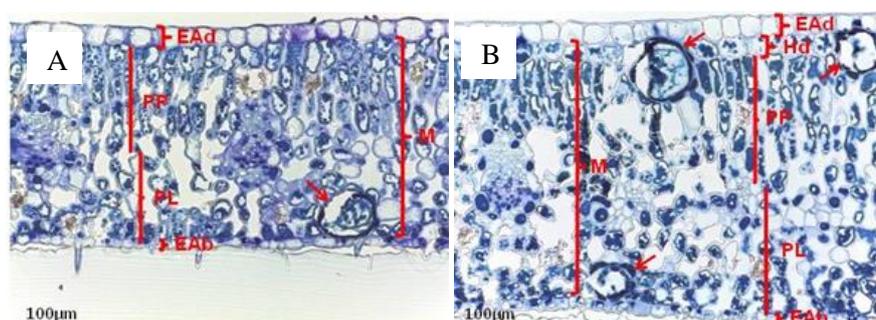


Figura 11. Lâmina foliar de *Psidium cattleianum* corados com Azul de Toluidina, de plantas provenientes da área de referência (A) e da área exposta à pluma de poluentes (B) (cortes transversais). As cavidades secretoras estão indicadas por setas. EAb = epiderme abaxial; EAd = epiderme adaxial; Hd = hipoderme; M = mesofilo; PL = parênquima lacunoso; PP = parênquima paliçádico.

Verificou-se a ocorrência de hipoderme descontínua, subjacente à epiderme adaxial, variando de ausente (Figuras 11A e 12A) a duas camadas (Figuras 12B e 12C). Na região da margem, a hipoderme apresenta sua máxima espessura e costuma ser mais fenólica (Figura 12C). Tanto na região da margem, quanto próximo à nervura, destacam-se cavidades secretoras em meio ao mesofilo (Figuras 12C e 12D) e idioblastos contendo cristais de oxalato de cálcio do tipo drusa (Figura 12A e 12B).

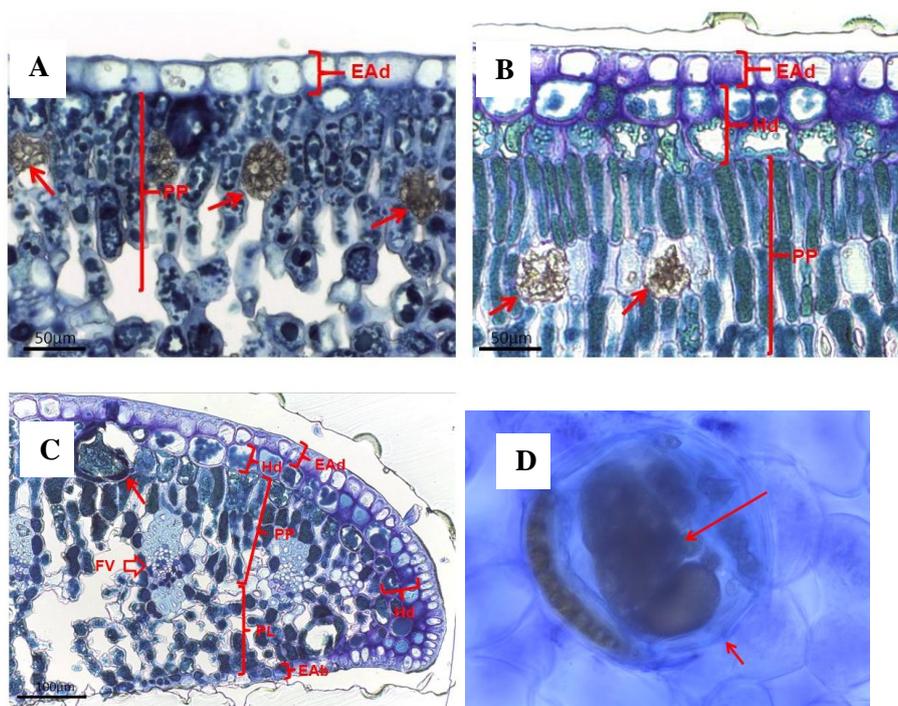


Figura 12. Lâmina foliar de *Psidium cattleianum* (cortes transversais). (A) Porção adaxial, evidenciando cristais de oxalato de cálcio do tipo drusa (indicados por setas), de uma planta da área de referência (B) Porção adaxial, evidenciando cristais de oxalato de cálcio do tipo drusa (indicados por setas), de uma planta proveniente da área exposta à pluma de poluentes. (C) Bordo, evidenciando cavidades secretoras (indicadas por setas) em folha de uma planta proveniente da área exposta à pluma de poluentes. (D) Detalhe de cavidade secretora (seta curta) contendo secreção (seta longa) em um indivíduo proveniente da área exposta à pluma de poluentes. EAb = epiderme abaxial; EAd = epiderme adaxial; Hd = hipoderme; FV = feixe vascular; PL = parênquima lacunoso; PP = parênquima paliçádico; CS = cavidade secretora; S = secreção.

As cavidades secretoras observadas em *P. cattleianum* foram mais numerosas no mesofilo das folhas de plantas oriundas da área exposta à pluma de poluentes do que nas plantas da área de referência, nas duas estações do ano de 2016 (Tabela 5). Um aumento no diâmetro dos ductos secretores foi observado em folhas de *Clusia hilariana* submetidas à chuva ácida (SILVA e outros, 2005), indicando maior produção de secreção. Em plantas de *Pinus eldarica* submetidas à poluição oriunda de tráfego veicular, aumentou o número de ductos resiníferos no lenho (SAFDARI e outros, 2012).

As folhas de *M. indica* são hipoestomáticas, com epiderme simples em ambas as faces, mesofilo heterogêneo dorsiventral tendendo a isobilateral, com parênquima paliçádico contendo de uma a três camadas de células, e parênquima lacunoso com cerca de sete camadas, sendo que a mais basal possui células ligeiramente em paliçada. Os feixes vasculares são colaterais (Figura 13).

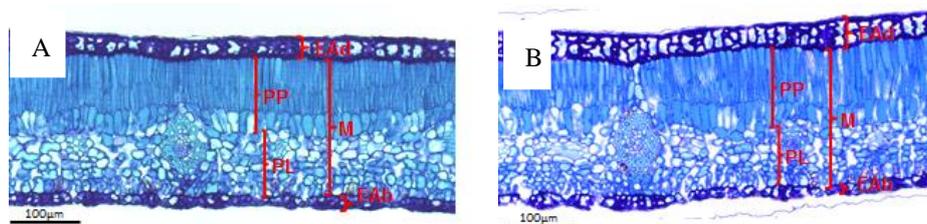


Figura 13. Cortes transversais da lâmina foliar de *Mangifera indica* corados com Azul de Toluidina, de plantas provenientes das áreas de referência (A) e exposta à pluma de poluentes (B). EAb = epiderme abaxial; EAd = Epiderme adaxial; PL = parênquima lacunoso; PP = parênquima paliçádico; M = mesofilo.

Os estômatos nas folhas de *M. indica* são do tipo paracítico e podem ocorrer isolados ou geminados. Nas folhas expostas à pluma de poluentes, os estômatos geminados podem não ser tão bem formados como os das plantas da área de referência (Figura 14), que possuem aspecto mais funcional.

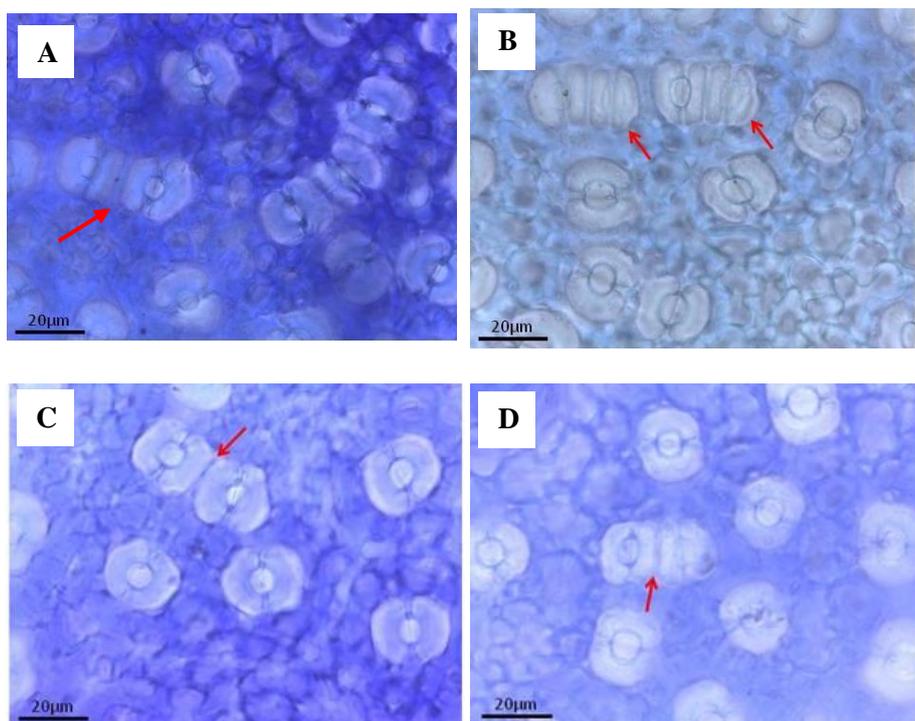


Figura 14. Cortes paradérmicos da epiderme foliar abaxial de *M. indica* corados com Azul de Toluidina, evidenciando estômatos geminados, em plantas provenientes das duas áreas estudadas. Nas folhas das plantas da área de referência (A e C), os estômatos geminados possuem aspecto normal, enquanto nas plantas expostas à pluma de poluentes (B e D) os mesmos aparecem deformados (indicados por setas). As fotos representam amostras colhidas no verão (A e B) e no inverno (C e D) de 2016.

No presente estudo, folhas de *M. indica* expostas à pluma de poluentes apresentaram estômatos geminados com formato menos regular que nas plantas da área de referência. O desenvolvimento de estômatos deformados é relatado em diferentes tipos de poluição atmosférica. Em *Galesia integrifolia*, *Genipa americana* e *Mimosa artemisiana*, este sintoma manifestou-se em plantas submetidas à chuva ácida simulada (SANT'ANNA-SANTOS e outros, 2006a; 2006b). Em regiões de intenso tráfego de veículos, a poluição atmosférica pode levar a deformidades severas nos estômatos, como, por exemplo, o desenvolvimento de uma única célula guarda, como verificado em *Polyalthia longifolia* (PATHAK e

PANCHOLI, 2014). Entretanto, no presente estudo, as deformidades estomáticas foram sutis e pouco frequentes, sendo verificadas apenas em *M. indica*.

A densidade estomática em folhas de *M. indica*, durante o verão, foi maior nas plantas expostas à pluma de poluentes do que nas plantas da área de referência. Durante o inverno, no entanto, não houve diferença entre os tratamentos. Em relação à densidade estomática em folhas de *P. cattleianum*, não houve diferença entre os tratamentos nas duas estações do ano (Tabela 5).

Tabela 5: Densidade estomática e número de cavidades em folhas de *P. cattleianum* e *M. indica* durante duas estações, em 2016.

Característica	Valores médios							
	<i>Psidium cattleianum</i>				<i>Mangifera indica</i>			
	Verão		Inverno		Verão		Inverno	
	R	P	R	P	R	P	R	P
Densidade estomática (n°. mm ⁻²)	461,4 a	385,0 a	616,6 a	570,5 a	620,6 b	696,6 a	793,9 a	739,5a
Cavidades (n°)	42 b	65 a	31 b	51 a	-	-	-	-

O aumento da frequência (densidade) estomática é uma conhecida resposta de muitas espécies vegetais a diversas formas de poluição atmosférica, como tem sido verificado em plantas de *Tradescantia pallida* (CRISPIM e outros, 2014), *Eugenia uniflora* (ALVES e outros, 2008), *Tabernaemontana divaricata* e *Hamelia patens* (AMULYA e outros, 2015) expostas à poluição veicular; em *Acer platanoides*, à poluição por tráfego e termoelétrica (MITROVIĆ e outros, 2006); em *Sida acuta*, à emissão de poluentes por uma fábrica de cimento (OGUNKUNLE e outros, 2013); em *Podocarpus lambertii*, cultivada em solo contaminado com petróleo (MARANHO e outros, 2006); em *Glycine max* e *Liquidambar styraciflua*, sob progressivo incremento na concentração de CO₂ (THOMAS e HARVEY, 1983); e em *Abutilon indicum*, *Croton sparsiflorus* e *Cassia*

occidentalis, sob influência de poluentes oriundos de fábrica de derivados de argila (SUKUMARAM, 2014).

Em *P. cattleianum*, vários estômatos apresentaram-se com o ostíolo obstruído por material amorfo nas plantas expostas à pluma de poluentes (Figura 15 B e D). Essa condição foi visualizada nas amostras de folhas de *M. indica* oriundas das duas áreas, embora menos frequente nas plantas da área de referência (Figura 15). Estes resultados corroboram os registrados em *Tabernaemontana divaricata* e *Hamelia patens*, nos quais a quantidade de estômatos obstruídos em plantas expostas a poluentes de veículos foi maior que em plantas da área de referência (AMULYA e outros, 2015).

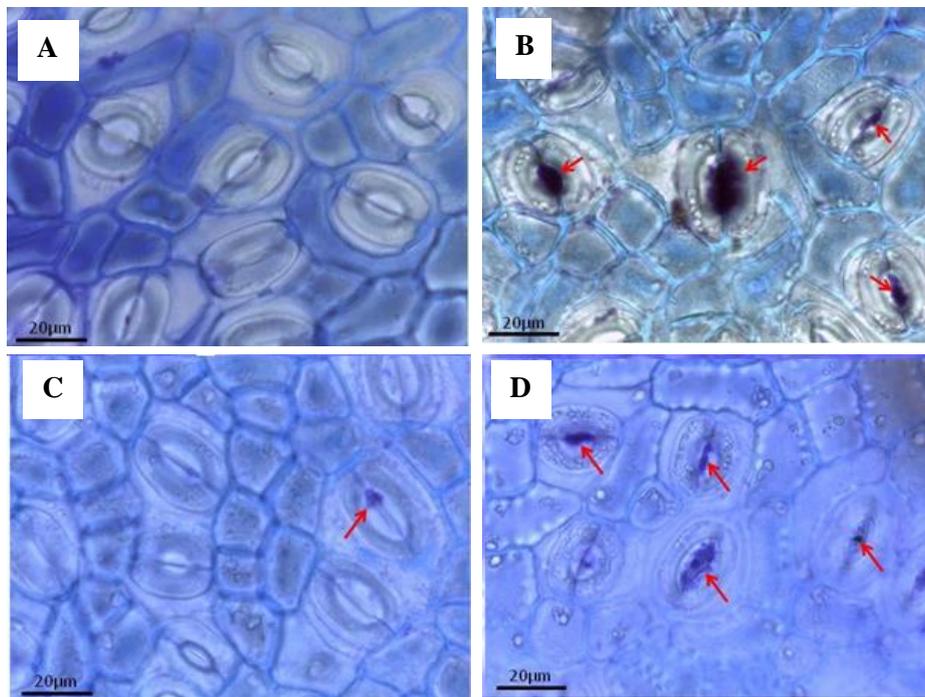


Figura 15. Cortes paradérmicos da epiderme foliar abaxial de *Psidium cattleianum* corados com Azul de Toluidina, evidenciando estômatos sem (A) e com (B, C e D) material obstruindo o ostíolo (indicado por setas), em plantas da área de referência (A e C) e expostas à pluma de poluentes (B e D). Amostras colhidas no verão (A e B) e no inverno (C e D) de 2016.

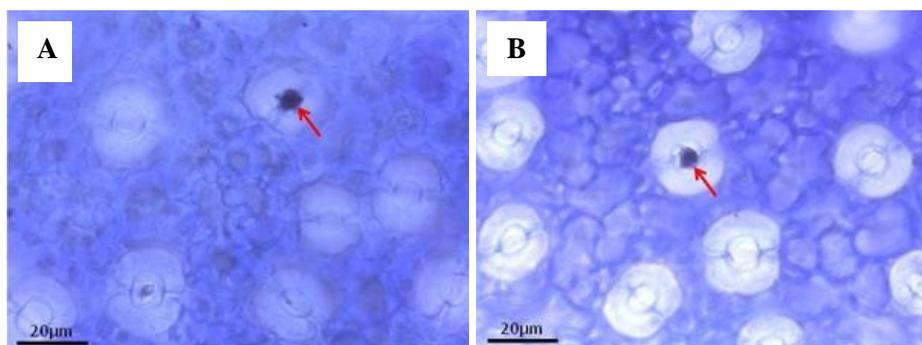


Figura 16. Cortes paradérmicos da epiderme foliar abaxial de *Mangifera indica* corados com Azul de Toluidina, evidenciando estômatos com material obstruindo o ostíolo (indicado por setas), em plantas da área de referência (A) e expostas à pluma de poluentes (B). Amostras colhidas no inverno de 2016.

As folhas de *L. multiflorum* possuem estrutura em "V", quando em corte transversal. Na face adaxial, ocorrem sulcos paralelos longitudinais delimitados por ressaltos, enquanto, na face abaxial, a superfície é relativamente plana, acompanhando a convexidade da lâmina foliar (Figura 17). Cada ressalto é provido de um feixe vascular, sendo, portanto, uma nervura. A nervura central é a maior e aloja o feixe vascular mais calibroso da lâmina foliar (Figura 17B). Tanto na face adaxial quanto na abaxial de cada nervura da folha, ocorrem grupos de fibras, podendo ser ausentes na face abaxial em alguns casos.

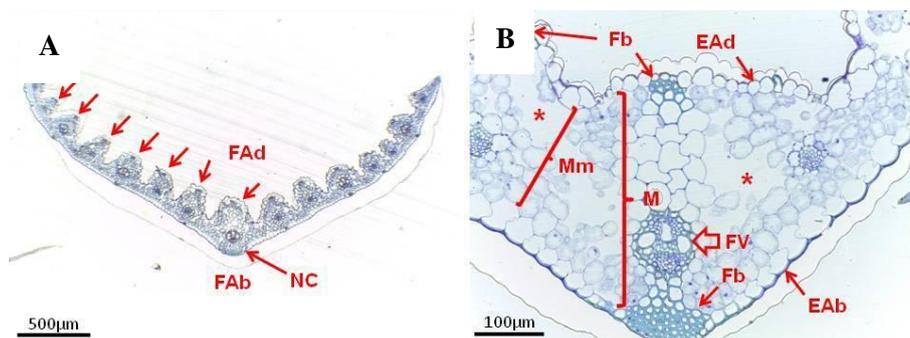


Figura 17. Cortes transversais da lâmina foliar de *Lolium multiflorum* corados com Azul de Toluidina (A) Amostra proveniente de plantas expostas à pluma de poluentes. Os ressaltos na face adaxial encontram-se indicados por setas. (B) Corte transversal da lâmina foliar na região da nervura central, de amostra proveniente de planta da área de referência. Os espaços intercelulares amplos encontram-se indicados com asteriscos. FAB = face abaxial; FAd = face adaxial; NC = nervura central; EAb = epiderme abaxial; EAd = epiderme adaxial; Fb = fibras; FV = feixe vascular; M = mesofilo; Mm = medida do mesofilo adotada neste estudo.

A folha é anfiestomática e possui tricomas tectores unicelulares normais unisseriados na face adaxial (Figura 18A). A epiderme é simples em ambas as faces. Na epiderme da face adaxial da folha, possui células ordinárias com dimensões variáveis, enquanto na epiderme abaxial as células variam pouco em tamanho, exceto aquelas sobrepostas por fibras (Figura 18B).

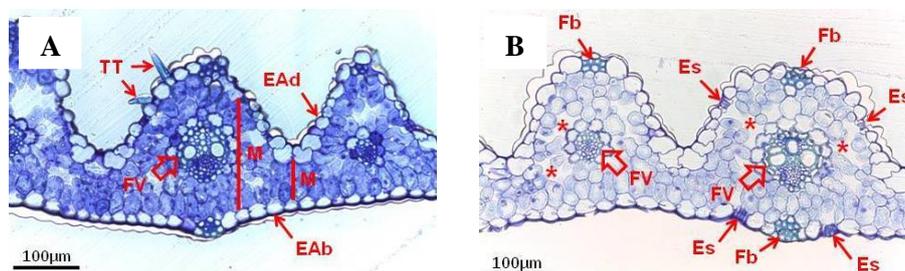


Figura 18. Cortes transversais da lâmina foliar de *Lolium multiflorum* corados com Azul de Toluidina, na região entre a nervura principal e o bordo, também corado com Azul de Toluidina, de uma planta da área de referência (A) e de uma planta exposta à pluma de poluentes (B). Os espaços intercelulares amplos encontram-se indicados por asteriscos. Es = estômato;

Fb = fibras; FV = feixe vascular; EAb = epiderme abaxial; EAd = epiderme adaxial; M = mesofilo; TT = tricoma tector.

O mesofilo é homogêneo, sendo mais compacto subjacente à epiderme abaxial, porém delimitando espaços intercelulares amplos, contínuos com as câmaras subestomáticas, nas porções em direção à epiderme adaxial (Figura 19A).

Na região do bordo, as nervuras são menos calibrosas e geralmente desprovidas de fibras em ambas as faces, exceto a nervura mais externa de cada bordo, que possui um feixe de fibras associadas à epiderme esclerenquimatosa na região de encontro das epidermes adaxial e abaxial (Figura 19B).

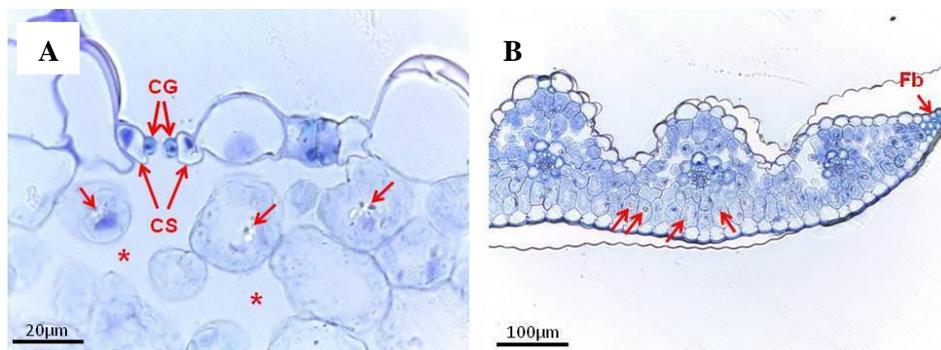


Figura 19. Cortes transversais da lâmina foliar de *Lolium multiflorum* na região da face adaxial, corados com Azul de Toluidina. (A) Amostra de uma planta exposta à pluma de poluentes. Os espaços intercelulares amplos encontram-se indicados por asteriscos. (B) Amostra proveniente de plantas da área de referência. Corpúsculos hialinos associados ao núcleo encontram-se indicados por setas. CG = células-guarda; CS = células subsidiárias; Fb = fibras.

4.3.3 Morfometria

As diferenças anatômicas entre as folhas de plantas de *P. cattleianum* expostas à pluma de poluentes e as plantas da área de referência foram evidentes no período do verão. A epiderme adaxial e o mesofilo foram

significativamente mais espessos no primeiro caso (Figura 11). Esse aumento na espessura do mesofilo se deve, principalmente, à diferença na espessura do parênquima paliçádico, que foi significativamente maior nas folhas das plantas expostas à pluma de poluentes (Tabela 6).

No período do inverno, as medidas de *P. cattleianum* revelaram diferenças entre os tratamentos quanto à espessura do parênquima lacunoso e do mesofilo (Tabela 6).

Tabela 6: Espessura média de tecidos foliares de *Psidium cattleianum*, *Lolium multiflorum* e *Mangifera indica* avaliados no final do verão e do inverno, em 2016. R = área de referência (livre de poluentes); P = área exposta à pluma de poluentes. Em cada estação, para cada espécie, letras iguais indicam que os tratamentos não diferem entre si, de acordo com o teste *t* ($p \leq 0,05$).

Tecido Foliar	Espessura (μm)					
	<i>Psidium cattleianum</i>		<i>Lolium multiflorum</i>		<i>Mangifera indica</i>	
	R	P	R	P	R	P
Verão						
Epiderme	30,45 b	33,58 a	-	-	30,05 b	34,84 a
Hipoderme	34,76 a	37,27 a	-	-	-	-
Parênquima paliçádico	120,69 b	152,28 a	-	-	98,47 a	99,35 a
Parênquima lacunoso	174,23 a	177,65 a	-	-	93,51 a	96,59 a
Mesofilo	318,44 b	362,46 a	199,84 a	171,03 b	191,98 a	195,94 a
Inverno						
Epiderme	30,42 a	31,93 a	-	-	33,26 b	35,93 a
Hipoderme	46,67 a	43,73 a	-	-	-	-
Parênquima paliçádico	157,41 a	143,43 a	-	-	103,9 a	104,53 a
Parênquima lacunoso	215,75 a	192,30 b	-	-	121,6 b	133,44 a
Mesofilo	371,64 a	336,01 b	304,4a	215,32b	225,49 a	238,3 a

Durante o verão, verificou-se aumento na espessura média da epiderme foliar das plantas de *M. indica* expostas à pluma de poluentes, em comparação com as plantas da área de referência.

Assim como ocorreu em *P. cattleianum*, algumas características morfométricas em *M. indica* variaram no período de inverno. A maior espessura epidérmica se manteve nas plantas expostas à pluma de poluentes, bem como maior espessamento no parênquima lacunoso.

Algumas espécies apresentam mudanças na espessura de tecidos do mesofilo foliar que possibilitam maior plasticidade, em diferentes condições de estresse (MELO e outros, 2007). Estudos têm demonstrado que a exposição das plantas aos metais pesados, por exemplo, causa diminuição no

tamanho das células do mesofilo (GOMES e outros, 2011). A diminuição dos espaços intercelulares nas folhas, que dificulta o deslocamento de compostos fitotóxicos nos tecidos vegetais, tem sido verificada em plantas expostas à poluição (ALVES e outros, 2001; GEROSA e outros, 2003). Por outro lado, a maior quantidade de espaços intercelulares em folhas com maior espessura implica maior facilidade de difusão de gases no interior da folha (PEDROSO e ALVES, 2008).

A análise anatômica comparativa constatou redução significativa na espessura média do mesofilo, adjacente à nervura central (Tabela 6), em plantas de *L. multiflorum* expostas à pluma de poluentes nas duas estações.

A epiderme significativamente mais espessa, como a encontrada neste estudo em plantas de *P. cattleianum* e *M. indica* expostas à pluma de poluentes, também foi relatada em estudos com outras espécies, como em *Acer platanoides* submetidas a poluentes veiculares e de Indústria termoeleétrica (MITROVIĆ e outros, 2006), e em *Platanus acerifolia* localizadas nas adjacências de uma indústria metalúrgica (DINEVA, 2004). Entretanto, efeito contrário foi verificado em *Tanacetum vulgare* expostas à poluição por metais pesados, gases da combustão, NO_x e SO₄ (STEVOVIĆ e outros, 2010).

O aumento da espessura foliar ou do mesofilo tem sido verificado em diversas espécies submetidas à poluição atmosférica. Em plantas de *Plantago lanceolata* expostas à poluição oriunda de gases de veículos automotivos (GOSTIN, 2009b), em *Platanus acerifolia* numa região metalúrgica (DINEVA, 2004) e em *Zea mays* expostas ao incremento na concentração de CO₂ (THOMAS e HARVEY, 1983), verificou-se aumento na espessura foliar, causado principalmente pelo aumento no parênquima paliçádico. O aumento na espessura do parênquima é uma estratégia de defesa da planta, que confere maior resistência aos poluentes (DINEVA, 2004). Em plantas de *Podocarpus lambertii* em solo contaminado por petróleo, além do aumento da espessura do mesofilo, principalmente pelo aumento do parênquima paliçádico, houve desenvolvimento da condição de

isobilateralidade, ou seja, de parênquima paliçádico subjacente a ambas as epidermes (MARANHO e outros 2006).

No presente estudo, observou-se diminuição na espessura do mesofilo em plantas de *L. multiflorum* expostas à pluma de poluentes. Este efeito também se verificou no híbrido *Tradescantia subcaulis* x *T. hirsutiflora* (*Tradescantia* clone 4430), sob influência de poluentes automotivos e secundários (O₃) (ALVES e outros, 2001); em *Trifolium montana*, *T. pratense* e *T. repens*, sob influência de poluentes de uma fábrica de cimento (GOSTIN, 2009a); em *Tanacetum vulgare*, sob ação de metais pesados e gases oriundos da combustão (STEVOVIĆ e outros, 2010); em *Eugenia uniflora*, sob poluição por veículos (ALVES, 2008); e em *Taraxacum officinale*, sob influência de metais pesados no solo, nos arredores de uma mina. Nesta última espécie, inclusive, houve supressão no desenvolvimento do parênquima paliçádico (BINI e outros, 2012).

Aparentemente, a ampla diversidade de respostas anatômicas à ação dos poluentes deve ser atribuída às peculiaridades de cada espécie vegetal. A depender da espécie, poluentes como SO₂, NO_x, CO e materiais particulados emitidos em locais com intenso tráfego de veículos automotivos, tanto podem causar aumento na espessura foliar (GOSTIN, 2009b; AMULYA e outros, 2015) como redução (ALVES e outros, 2001, 2008).

4.3.4 Cristais, compostos fenólicos e tricomas tectores

Em lâminas foliares de *P. cattleianum* foram encontrados cristais de oxalato de cálcio do tipo drusa (Figura 20), os quais tiveram ocorrência similar nos dois tratamentos e nas duas estações consideradas (Figura 21).

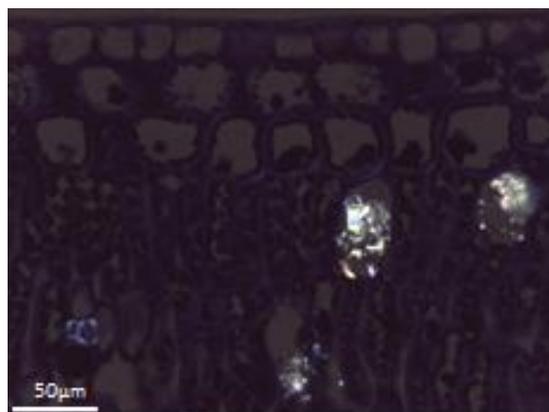


Figura 20. Lâmina foliar de *Psidium cattleianum* (corte transversal), evidenciando cristais de oxalato de cálcio do tipo drusa, sob luz polarizada.

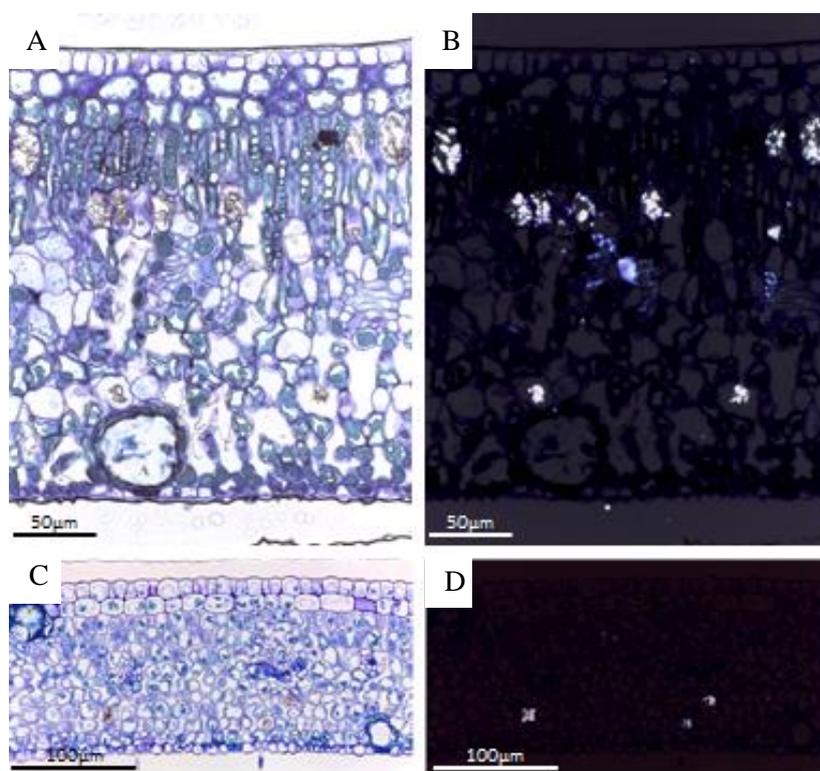


Figura 21. Cortes transversais de lâmina foliar em *Psidium cattleianum* corados com Azul de Toluidina, sob luz não polarizada (A, C) e polarizada (B, D), evidenciando a presença de cristais de oxalato de cálcio do tipo drusa, em amostras provenientes de plantas da área de referência (A e B) e de plantas expostas à pluma de poluentes (C e D).

O parênquima clorofiliano de *M. indica* revelou a presença de idioblastos contendo cristais de oxalato de cálcio, tanto do tipo prismático (Figura 22), como associado às fibras dos feixes vasculares. No parênquima clorofiliano, esses idioblastos ocorrem preferencialmente próximos à epiderme, em especial à abaxial. As folhas expostas à pluma de poluentes apresentaram mais cristais que nas plantas da área de referência (Figura 23) quando as lâminas foram comparadas visualmente, nas duas estações do ano.

A síntese de oxalatos é relacionada com o balanço iônico da planta. Os cristais, que na sua maioria são compostos de oxalato de cálcio, representam uma estratégia da planta para manter o equilíbrio iônico, que é afetado quando a carga de poluentes é elevada. O aumento na quantidade de cristais é uma resposta que tem sido observada em diferentes plantas submetidas a poluentes gasosos e chuva ácida (ALVES e outros, 2008). Gupta e outros (2017) encontraram cristais de oxalato de cálcio, do tipo drusa, associados ao xilema secundário de *M. indica* em local de intensa mineração na Índia.

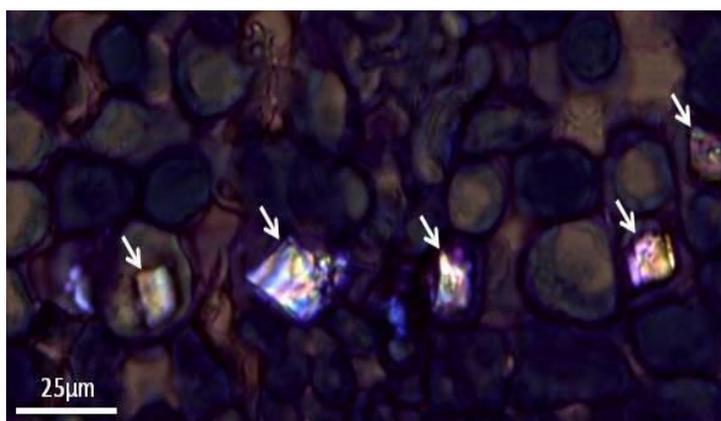


Figura 22. Corte transversal de lâmina foliar de *M. indica*, corado com Azul de Toluidina, sob luz polarizada, evidenciando a presença de cristais de oxalato de cálcio do tipo prismático (indicados por setas), em amostra colhida de folhas expostas à pluma de poluentes.

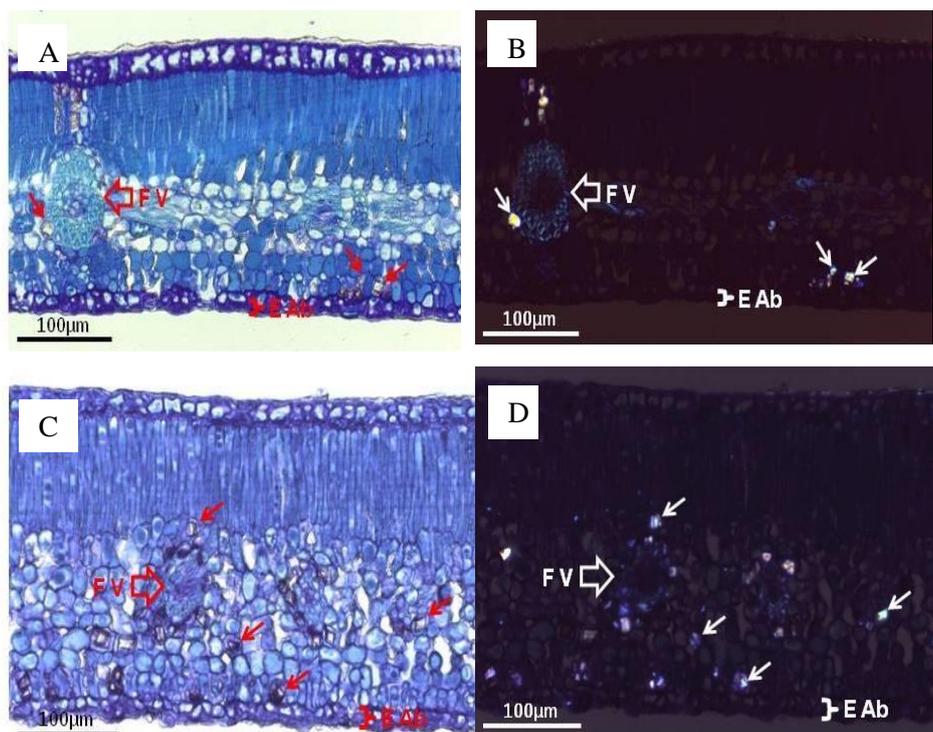


Figura 23. Cortes transversais de lâmina foliar de *Mangifera indica* corados com Azul de Toluidina, sob luz não polarizada (A e C) e sob luz polarizada (B e D), evidenciando a presença de cristais de oxalato de cálcio do tipo prismático (indicados por setas) em planta da área de referência (A e B) e em planta exposta à pluma de poluentes (C e D). EAb = epiderme abaxial; FV = feixe vascular.

O teste com dicromato de potássio evidenciou a presença de compostos fenólicos em quase todas ou em todas as células do parênquima clorofiliano nas folhas de *P. cattleianum*, mas não houve diferenças entre amostras de plantas representativas dos dois tratamentos (Figura 24). Resultado similar foi encontrado em lâminas foliares de *M. indica*, não sendo observadas diferenças entre os mesmos (Figura 25). Em *L. multiflorum*, o teste com dicromato de potássio revelou ausência de compostos fenólicos em tecidos foliares.

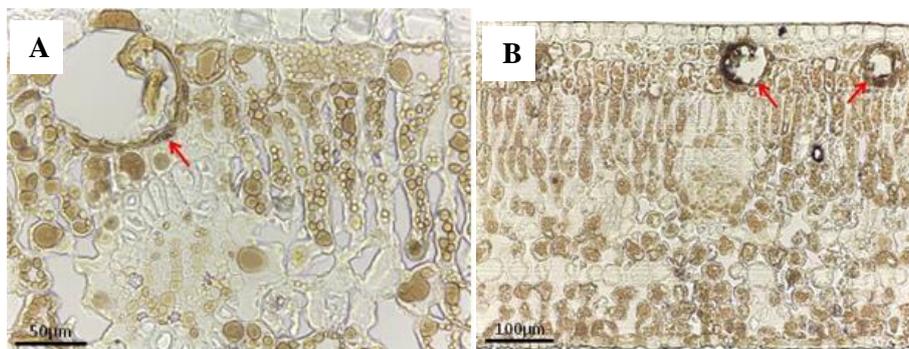


Figura 24. Cortes transversais de lâmina foliar de *Psidium cattleianum* submetidos ao teste com dicromato de potássio, evidenciando a presença de compostos fenólicos (cor âmbar) em plantas da área de referência (A) e expostas à pluma de poluentes (B). As cavidades secretoras encontram-se indicadas por setas.

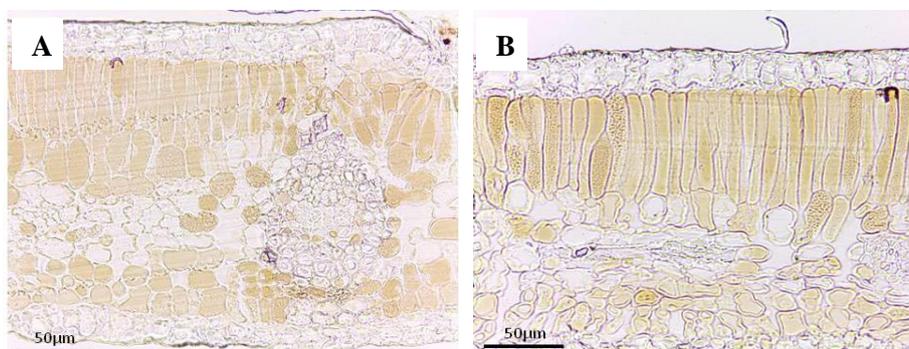


Figura 25. Cortes transversais de lâmina foliar de *Mangifera indica* submetidos ao teste com dicromato de potássio, evidenciando a presença de compostos fenólicos (cor âmbar) em plantas da área de referência (A) e expostas à pluma de poluentes (B).

A presença de compostos fenólicos no mesofilo de tecidos foliares de *M. indica* e *P. cattleianum*, provenientes dos dois tratamentos, indica que esta característica não foi afetada pela exposição das plantas dessas espécies à pluma de poluentes. A produção de compostos fenólicos por células do mesofilo costuma ser associada a efeitos de poluentes, como relatado em estudos com plantas de *Triticum aestivum* L. (AGRAWAL e DEEPAK, 2003) expostas à fumigação com SO₂ e CO₂; em plantas de *Plantago*

lanceolata (GOSTIN, 2009b) e *Eucalyptus camaldulensis* (CHRISTODOULAKIS e KOUTSOGEORGOPOULOU, 1991) localizadas próximo a uma rodovia de intenso tráfego; e em plantas de *Lotus corniculatus*, *Trifolium montanum*, *T. pratense* e *T. repens*, sob influência de poluentes de uma fábrica de cimento (GOSTIN, 2009a).

As condições climáticas semi-áridas de Brumado-BA, que se caracterizam por intensa radiação luminosa e elevadas temperaturas, às quais foram submetidas as plantas de *P. cattleianum* e *M. indica*, podem ter mascarado o potencial indicativo de poluição pela presença de compostos fenólicos.

Em relação à presença de lipídios totais, o teste com Sudam B evidenciou que não houve diferença entre as amostras de folhas de *P. cattleianum* e de *M. indica* em plantas provenientes das duas áreas experimentais. Em folhas de *L. multiflorum*, este teste não detectou a presença de lipídios, nem de cutícula.

A utilização do teste com Sudam Black B, no presente estudo, teve como principal objetivo analisar a cutícula da epiderme, uma vez que podem ocorrer lesões por ação de poluentes (SILVA e outros, 2005; MITROVIĆ e outros, 2006; SANT'ANNA-SANTOS, 2006a), além de aumento na sua espessura (MARANHO outros, 2006; RHIMI e outros, 2016) e no depósito de ceras epicuticulares (THOMAS e HARVEY, 1983). Como a cutícula das três espécies analisadas neste estudo é demasiadamente fina, a microscopia óptica não se mostrou uma ferramenta eficiente para o teste com Sudam Black B.

Os tricomas tectores unicelulares, normais e unisseriados de *P. cattleianum* (Figura 26) foram visualmente mais numerosos nas plantas expostas à pluma de poluentes (Figura 27).

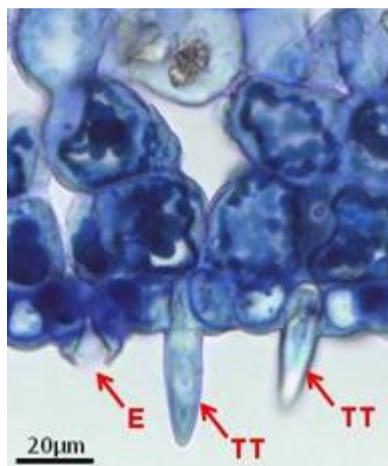


Figura 26. Corte transversal da porção abaxial da lâmina foliar de *Psidium cattleianum* corado com Azul de Toluidina, proveniente de plantas da área de referência. E = estômato; TT = tricoma tector.

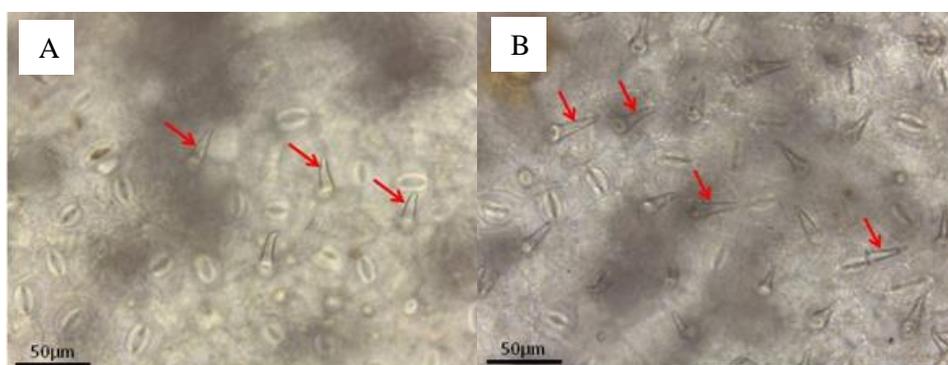


Figura 27. Cortes paradérmicos da epiderme foliar abaxial de *Psidium cattleianum*, evidenciando a presença de tricomas tectores (indicados por setas), em planta da área de referência (A) e exposta à pluma de poluentes (B).

Em ambos os tratamentos, as amostras de *M. indica* apresentaram grande quantidade de tricomas secretores, não sendo possível determinar diferenças visualmente. Entretanto, no período do inverno, as plantas expostas à pluma de poluentes apresentaram tricomas com deformações e lesões, além de reações fenólicas no teste com dicromato de potássio (Figura 29).

Quanto a esta característica, no entanto, estudos realizados com *M. indica* em áreas mais poluídas de Indore, na Índia, apresentaram maior frequência de tricomas que nas plantas da área de referência (PATHAK e PANCHOLI, 2014). Em plantas de *Hamelia patens*, sob influência de poluentes de veículos automotores, contudo, houve diminuição na quantidade e no comprimento de tricomas tectores (AMULYA e outros, 2015). Por outro lado, plantas de *Alchomea cordifolia* submetidas à poluição por asfalto, revelaram ausência de tricomas tectores, diferindo das plantas em ambiente livre de poluentes (AJURU e outros, 2014).

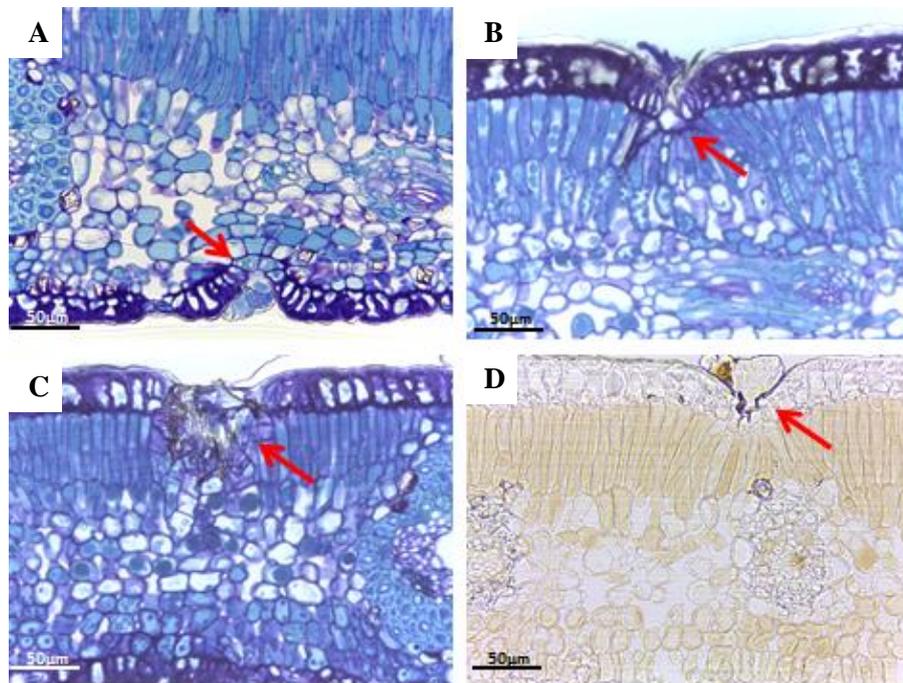


Figura 28. Cortes transversais da lâmina foliar de *Mangifera indica* corados com Azul de Toluidina (A, B, C) e dicromato de potássio (D), evidenciando a presença de tricomas secretores (indicados por setas) em plantas da área de referência (A) e em plantas expostas à pluma de poluentes (B, C e D), apresentando deformidade, lesão e compostos fenólicos, respectivamente.

Além das características anteriormente citadas, grãos de amido foram detectados em *M. indica* nas amostras retiradas de plantas da área de referência (Figura 29). Este resultado corrobora a maior concentração de

amido encontrada nas avaliações bioquímicas para esta espécie nas plantas da área de referência.

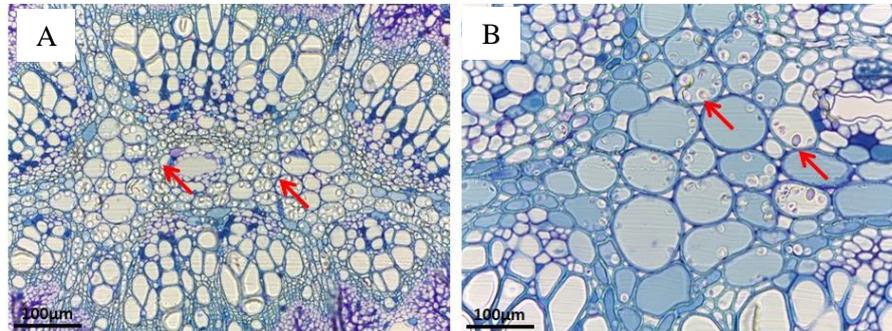


Figura 29. Cortes transversais da lâmina foliar de *Mangifera indica* corados com Azul de Toluidina, evidenciando grãos de amido nas células de plantas da área de referência, em menor (A) e maior (B) aumento.

5 CONCLUSÕES

A pluma de poluentes atmosféricos resultante do beneficiamento do minério magnesita realizado pela indústria mineradora afetou, em diferentes formas e intensidades, algumas características morfológicas, fisiológicas e anatômicas de *P. cattleianum*, *L. multiflorum* e *M. indica*. Cada espécie reagiu de forma peculiar, conforme o ano de estudo.

Em *P. cattleianum*, no primeiro ano (2016), os poluentes afetaram, negativamente e de forma acentuada, a altura de plantas, o número de folhas, a área foliar e o acúmulo de massa seca em todos os órgãos da planta. Os reflexos negativos dos poluentes sobre o crescimento das plantas foram atribuídos à provável queda na taxa de fotossíntese, tendo em vista a redução nos teores de clorofilas e a obstrução de estômatos com material amorfo, afetando o aparato fotoquímico e as trocas gasosas. Os teores de amido aumentaram, sugerindo inibição da sua hidrólise, limitando a suplementação de açúcares solúveis, que poderiam compensar a demanda energética de crescimento nas plantas expostas à pluma de poluentes. No ano seguinte (2017), as plantas também foram afetadas negativamente pelos poluentes, embora a maior parte dos seus efeitos tenha-se manifestado com menor intensidade que no ano anterior.

Em *L. multiflorum*, no primeiro ano, os poluentes afetaram negativamente a altura de plantas, o número de folhas, a área foliar e a massa seca de todos os órgãos, principalmente as raízes. Os teores de clorofilas não diferiram entre os tratamentos, sugerindo que outros fatores podem ter atuado sobre a síntese primária de compostos orgânicos, refletindo na produção de massa seca e área foliar. O mesofilo diminuiu a sua espessura, tornando-se a única alteração anatômica observada nas folhas, cuja resposta pode ser considerada como indicadora de tolerância das plantas à ação deletéria dos poluentes. No ano seguinte, as plantas também foram afetadas

negativamente pelos poluentes, mas os seus efeitos se deram em menor intensidade que no ano anterior.

Em *M. indica*, nos dois anos de estudo, características morfofisiológicas, tais como altura de plantas, o número de folhas e a massa seca em todos os órgãos, apresentaram melhor desempenho nas plantas expostas à pluma de poluentes. Os poluentes causaram aumento no número de cavidades e cristais nas folhas, além de deformidades em estômatos, mas essas alterações anatômicas não produziram efeitos deletérios sobre as características morfofisiológicas. Tecidos foliares mais espessos, além do aumento na densidade estomática, favorecendo as trocas gasosas, podem ter relação com a tolerância desta espécie aos poluentes. O teor de amido diminuiu em folhas expostas à pluma de poluentes, sugerindo intensificação da sua hidrólise como alternativa metabólica de suplementação de açúcares solúveis para atender à demanda energética de crescimento sob estresse.

O índice de fitotoxicidade, representado por necroses foliares em *P. cattleianum* e *M. indica*, foi maior nas plantas expostas à pluma de poluentes do que nas plantas da área de referência. Entre estas espécies, o efeito deletério dos poluentes foi mais acentuado em *P. cattleianum*.

Nas três espécies, a variação na intensidade de resposta das plantas aos poluentes, de um ano para o outro, foi atribuída a mudanças nas condições meteorológicas na área experimental.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDUL-WAHAB, S. A.; YAGUI, B. Use of plants to monitor contamination of air by SO₂ in and around refinery. **Journal of Environmental Science and Health. Part A, Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering**, Philadelphia v. 39, n. 6, p. 1559-1571, 2004.

AGRAWAL, M.; DEEPAK, S. Physiological and biochemical responses of two cultivars of wheat to elevated levels of CO₂ and SO₂, singly and in combination. **Environmental Pollution**, London, v. 121, p. 189-197, 2003.

AGRAWAL, M.; SINGH, B.; RAJPUT, M.; MARSHALL, F.; BELL, J. N. B. Effect of air pollution on peri-urban agriculture: a case study. **Environmental Pollution**, London, v. 126, p. 323-329, 2003.

AJURU, G.; M.; UPADHI, F. Effects of particulate matter on the anatomy of some tropical plants (*Alchonea cordifolia*, *Musa paradisiaca*, and *Manihot esculenta*). **International Journal of Scientific & Technology Research**, New Delhi, v. 3, n. 12, p. 304-308, 2014.

ALVES, E. S.; GIUSTI, P. M.; DOMINGOS, M. Estudo anatômico foliar do clone híbrido 4430 de *Tradescantia hybrid*: alterações decorrentes da poluição aérea. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 24, p. 561-566, 2001.

ALVES, E. S.; MOURA, B. B.; PEDROSO, A. N. V.; TRESMONDI, F.; DOMINGOS, M. The efficiency of tobacco Bel-W3 a native species for ozone biomonitoring in subtropical climate, as revealed by histo-cytochemical techniques. **Environmental Pollution**, London, v. 159, p. 3309-3315, 2011.

ALVES, E. S.; TRESMONDI, F.; LONGUI, E. L. Análise estrutural de folhas de *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) coletadas em ambientes rural e urbano, SP, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, Belo Horizonte, v. 22, n. 1, p. 241-248, 2008.

ALVIM, M. J. Aveia e azevem: alternativa na seca. **Revista Brasileira de Agropecuaria**, São Paulo, v. 1, n. 7, p. 57-58, 2001.

AMARAL, L. I. V. do; GASPAR, M.; COSTA, P. M. F.; AIDAR, M. P. M.; BUCKERIDG, M. S. Novo método enzimático rápido e sensível de extração

e dosagem de amido em materiais vegetais. **Hoehnea**, São Paulo, v. 34, n. 4, p. 425-431, 2007.

AMARANTE, C. V. T.; BISOGNIN, D. A.; STEFFENS, C. A.; ZANARDI, O. Z.; ALVES, E. O. Quantificação não destrutiva de clorofilas em folhas através de método colorimétrico. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 26, p. 471-475, 2008.

AMARANTE, C. V. T.; ZANARDI, O. Z.; AQUIDAUANA, M.; STEFFENS, C. A.; ERHART, J.; ALMEIDA, J. A. de. Quantificação da área e do teor de clorofilas em folhas de plantas jovens de videira ‘cabernet sauvignon’ mediante métodos não destrutivos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 3, p. 680-686, 2009.

AMULYA, L.; KUMAR, N. K.; JAGANNATH, S. Air pollution impact on micromorphological and biochemical response of *Tabernaemontana divaricata* L. (Gentianales: Apocynaceae) and *Hamelia patens* Jacq. (Gentianales: Rubiaceae). **Brazilian Journal of Biological Sciences**, São Carlos, v. 2, n. 4, p. 287-294, 2015.

ARNON, D. I. Cooper enzymes in isolated chloroplasts: Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 24, n. 1, p. 1- 15, 1949.

ASHENDEN, T. W.; WILLIAMS, I. A. D. Growth reductions in *Lolium multiflorum* Lam. and *Phleum pratense* L. as a result of SO₂ and NO₂. **Environmental Pollution, Series A**, London, v. 21, 131-139, 1980.

AQUINO, S. M. de F.; ALMEIDA, J. R.; CUNHA, R. R. R. S. B.; LINS, G. A. Bioindicadores vegetais - uma alternativa para monitorar a poluição atmosférica. **RIC**, Rio de Janeiro, v. 1, n. 1, p. 1-17, 2011.

BAMNIYA, B. R.; KAPOOR, C. S.; KAPOOR, K. Searching for efficient sink for air pollutants: studies on *Mangifera indica* L. **Clean Technologies Environmental Policy**, New York, v. 14, p. 107-114, 2012.

BARBIERI, R. L. **Cultura alternativa: O potencial da diversificação no cultivo das frutas nativas**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, p.1-2, 2011. (Relatório técnico).

BELL, J. N. B.; POWER, S. A.; DOLEY, D. Plants and atmospheric pollution. In: THOMAS, B.; MURRAY, B. G.; MURPHY, D. J. **Encyclopedia of Applied Plant Sciences**, v. 3: Crop Systems. 2 Ed. p. 332-340, 2017.

BERLYN, G. P.; MIKSCHE, J. P. **Botanical microtechnique and cytochemistry**. Ames: Iowa State University Press, 1976. 326 p.

BINI, C.; WAHSHA, M.; FONTANA, S.; MALECI, L. Effects of heavy metals on morphological characteristics of *Taraxacum officinale* Web. growing on mine soils in NE Italy. **Journal of Geochemical Exploration**, Amsterdam, v. 123, p. 101-108, 2012.

BULBOVAS, D.; CAMARGO, C. Z. S.; DOMINGOS, M. Ryegrass cv. Lema and guava cv. Paluma biomonitoring suitability for estimating nutritional contamination risks under seasonal climate in Southeastern Brazil. **Ecotoxicology Environmental Safety**, Amsterdam, v. 118, p. 149-157, 2015.

CARMINITTI, L.; DOMINGOS, R. L.; RINALDI, M. S.; SOUZA, S. R. O Potencial de *Lolium multiflorum* ssp *italicum* cv Lema como possível bioacumulador de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos presentes na atmosfera urbana. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 1, p. 204-206, 2007.

CARNEIRO, R. M. A.; TAKAYANAGUI, A. M. M. Estudos sobre bioindicadores vegetais e poluição atmosférica por meio de revisão sistemática da literatura. **Revista Brasileira de Ciências Ambientais**, São Paulo, n. 13, p. 26-44, 2009.

CASAGRANDE JR, J. G.; BIANCHI, V. J.; STRELOW, E. Z.; BACARIN, M. A.; FACHINELLO, J. C. Influência do sombreamento sobre os teores de carboidratos e fenóis em estacas semi-lenhosas de araçazeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 12, p. 2219-2223, 1999.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL - CETESB. Relatório de qualidade do ar no Estado de São Paulo. São Paulo: CETESB, 2004. 137 p. (Relatório técnico). Disponível em: <https://cetesb.sp.gov.br/ar/publicacoes-relatorios/>

CHAUAN, A. Photosynthetic pigment changes in some selected trees induced by automobile exhaust in Dehradun, Uttarakhand. **New York Science Journal**, New York, v. 2, p. 45-51, 2010.

CHRISTODOULAKIS, N. S.; KOUTSOGEORGOPOULOU, L. Air pollution effects on the leaf structure of two injury resistant species: *Eucalyptus camaldulensis* and *Olea europaea* L. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, Berlin, v. 47, p. 433-439, 1991.

CLIMATE-DATA.ORG. Clima: Brumado. Disponível em: < <http://pt.climate-data.org/location/5069/> > Acesso em: 13 de fevereiro de 2018.

CRISPIM, B. A.; SPÓSITO, J. C. V.; MUSSURY, R. M.; SENO, L. O.; GRISOLIA, A. B. Effects of atmospheric pollutants on somatic and germ cells of *Tradescantia pallida* (Rose) D.R. HUNT cv. purpurea. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 86, n. 4, p. 1899-1906, 2014.

DE TEMMERMAN, L.; BELL, J. N. B.; GARREC, J. P.; KLUMPP, A.; KRAUSE, G. H. M.; TONNEIJCK, A. E. G. **Biomonitoring of air pollutants with plants - considerations for the future**. In: KLUMPP, A.; ANSEL, W.; KLUMPP, G. (eds.). Urban air pollution, bioindication and environmental awareness. Göttingen: Cuvillier Verlag, p. 337-373, 2001.

DIAS, A. P. de S.; RINALDI, M. C. S.; MORAES, R. M. de Alterações bioquímicas associadas a injúrias foliares visíveis em plantas jovens de *Psidium guajava* 'Paluma' mantidas em ambiente contaminado por ozônio. **Hochnea**, São Paulo, v. 34, n. 2, p. 231-238, 2007.

DINEVA, S. B. Comparative studies of the leaf morphology and structure of white ash *Fraxinus americana* L. and London plane tree *Platanus acerifolia* Willd growing in polluted area. **Dendrobiology**, Kórník, v. 52, p. 3-8, 2004.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Serviço Nacional de Levantamento e Conservação de Solos. Manual de Métodos de Análise de Solos**. Rio de Janeiro, 1979. n.p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Cultivo da mangueira**. Embrapa Semiárido, 2ª ed., 2010. Disponível em : <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/.../1/CultivodaMangueira.pdf> . Acesso em fevereiro de 2018.

ESPOSITO, M. P.; FERREIRA, M. L.; SANT'ANNA, S. M. R.; DOMINGOS, M; SOUZA, S. R. Relationship between leaf antioxidants and ozone injury in *Nicotiana tabacum* 'Bel-W3' under environmental conditions in São Paulo, SE – Brazil. **Atmospheric Environment**, Amsterdam, v. 43, 619-623, 2009.

FAHEED, F.; MAZEN, A.; ABDELMOHSEN, S. Physiological and ultrastructural studies on calcium oxalate crystal formation in some plants. **Turkish Journal of Botany**, Ancara, v. 37, p. 139-152, 2013.

FIALHO, R. C.; BUCKER, J. Changes in levels of foliar carbohydrates and myo-inositol before premature leaf senescence of *Populus nigra* induced by

a mixture of O₃ and SO. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 74, p. 965-970, 1996.

FRANZON, R. C.; CAMPOS, L. Z. O.; PROENÇA, C. E. B.; SOUSA-SILVA, J. C. **Araças do gênero *Psidium*: principais espécies, ocorrência, descrição e usos**. Brasília: Embrapa Cerrados, 2009. 48 p.

FREEDMAN, B. **Environmental ecology: The ecological effects of pollution, disturbance and other stresses**. 2 ed. San Diego: Academic Press Incl., 1995. 606 p.

FURLAN, C. M.; MORAES, R. M.; BULBOVAS, P.; DOMINGOS, M.; SALATINO, A.; SANZ, M. J. *Psidium guajava* 'Paluma' (the guava plant) as a new bio-indicator of ozone in the tropics. **Environmental Pollution**, London, v. 147, p. 691-695, 2007.

GABE, M. **Techniques histologiques**. Paris: Masson & Cie, 1968. 1113 p.

GEROSA, G.; MARZUOLI, R.; BUSSOTTIC, F.; PANCRATIC, M.; BALLARIN-DENTI, A. Ozone sensitivity of *Fagus sylvatica* and *Fraxinus excelsior* young trees in relation to leaf structure and foliar ozone uptake. **Environmental Pollution**, London, v. 125, p. 91-98, 2003.

GIACOMO, B.; FORINO, L. M. C.; TAGLIASACCHI, A. M.; BERNARDI, R.; DURANTE, M. Ozone damage and tolerance in leaves of two poplar genotypes. **Caryologia**, Florence, v. 63, n. 4, p. 422-434, 2010.

GIRI, S.; SHRIVASTAVA, D.; DESHMUKH, K.; DUBEY, P. Effect of air pollution on chlorophyll content of leaves. **Current Agriculture Research Journal**, Bhopal, v. 1, n. 2, p. 93-98, 2013.

GOMES, M. P.; MARQUES, T. C. L. L. de S. e M.; NOGUEIRA, M. de O. G.; SILVA, G. H.; SOARES, A. M. Efeitos dos rejeitos da indústria de zinco na anatomia e crescimento de plantas jovens de *Salix humboldtiana* Willd. (salgueiro). **Hoehnea**, São Paulo, v. 38, n.1, p. 135-142, 2011.

GOSTIN, I. N. Air pollution effects on the leaf structure of some Fabaceae species. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, Cluj-Napoca, v. 37, n. 2, p. 57-63, 2009a.

GOSTIN, I. N. Structural modification induced by air pollutants in *Plantago lanceolata* leaves. **Analele Universității din Oradea, Fascicula Biologie**, v. 16, n. 1, p. 61-65, 2009b.

- GUPTA, A.; GUPTA, S.; VISHNUPRASAD, V. Druses in the secondary xylem of *Mangifera indica* collected from coal mines, India. **Journal of Tropical Forest Science**, Oradea, v. 29, n. 2, p. 179-184, 2017.
- HIJANO, C. F.; DOMINGUEZ, M. D. P.; GIMENEZ, R. G.; SANCHEZ, P. H.; GARCIA, I. S. Higher plants as bioindicators of sulphur dioxide emissions in urban environments. **Environmental Monitoring and Assessment**, Amsterdam, v. 111, p. 75-88, 2005.
- HU, Y.; BELLALLOUI, N.; TIGABU, M.; WANG, J.; DIAO, J.; WANG, K.; YANG, R.; SUN, G. Gaseous NO₂ effects on stomatal behavior, photosynthesis and respiration of hybrid poplar leaves. **Acta Physiology Plant**, Varsóvia, v. 37, p. 1-8, 2015.
- IMAI, K; KOBORI, K. Effects of the interaction between ozone and carbon dioxide on gas exchange, ascorbic acid content, and visible leaf symptoms in rice leaves. **Photosynthetica**, Praga, v. 46, n. 3, p. 387-394, 2008.
- INMET - INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA – Dados meteorológicos.
<http://www.inmet.gov.br/> 20 dez. 2016.
- JENSEN, W. A. **Botanical histochemistry: principles and practice**. 1^a ed, San Francisco: W. F. Freeman and Company, 1962. 408 p.
- JIFON, J. L.; SYVERTSEN, J. P.; WHALEY, E. Growth environment and leaf anatomy affect nondestructive estimates of chlorophyll and N in *Citrus* sp. leaves. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Geneva, v. 130, n. 2, p. 152-158, 2005.
- JOSHI, P. C.; SWAMI, A. Physiological responses of some tree species under roadside automobile pollution stress around city of Haridwar, India. **Environmentalist**, Dordrecht, v. 27, p. 365-374, 2007.
- KARDEL, F.; WUYTS, K.; KHAVANINZHADEH, A. R.; WUYTACK, T.; BABANEZHAD, M.; SAMSON, R. Comparison of leaf saturation isothermal remanent magnetization (SIRM) with anatomical, morphological and physiological tree leaf characteristics for assessing urban habitat quality. **Environmental Pollution**, London, v. 183, p. 96-103, 2013.
- KARNOVSKY, M. J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. **Journal of Cell Biology**, New York, v, 27, p. 137-138, 1965.

KLUMPP, G.; CLAUDIA, M. F.; DOMINGOS, M.; KLUMPP, A. Response of stress indicators and growth parameters of *Tibouchina pulchra* Cogn. exposed to air and soil pollution near the industrial complex of Cubatao, Brazil. **The Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 246, p. 79-91, 2000.

KLUMPP, A. Um novo conceito de monitoramento e comunicação ambiental: a rede europeia para a avaliação da qualidade do ar usando plantas bioindicadoras (EuroBionet). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 24, n. 4, p. 511-518, 2001.

KLUMPP, A.; ANSEL, W.; KLUMPP, G.; BREUER, J.; VERGNE, P.; SANZ, M. J.; RASMUSSEN, S.; RO-POULSEN, H.; ARTOLA, A. R.; PENUELAS, J.; SHANG, H.; GARREG, J. P.; CALATAYUD, V. Airborne trace element pollution in 11 European cities assessed by exposure of standardised ryegrass cultures. **Atmospheric Environment**, Amsterdam, v. 43, p. 329-339, 2009.

KLUMPP, A.; DOMINGOS, M.; MORAES, R.M.; KLUMPP, G. Effects of complex air pollution on tree species of the atlantic rain Forest near Cubatão, Brazil, **Chemosphere**, Oxford, v. 36, n. 45, p. 989-994, 1998.

KLUMPP, A.; HINTEMANN, T.; LIMA, J. S.; KANDELER, E. Bioindication of air pollution effects near a copper smelter in Brazil using mango trees and soil microbiological properties. **Environmental Pollution**, London, v. 126, n. 3, p. 313-321, 2003.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RIMA, 2006. 550 p.

LIMA, J. S.; FERNANDES, E. B.; FAWCETT, W. N. *Mangifera indica* and *Phaseolus vulgaris* in the bioindication of air pollution in Bahia, Brazil. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Amsterdam, Section B, v. 46, 275-278, 2000.

LIMA, W. de P. **As florestas e a poluição do ar**. IPEF- Série técnica: Piracicaba, v. 1, n. 1, p. 1-41, 1980.

LUCAS, P. W. The effects of prior exposure to sulphur dioxide and nitrogen dioxide on the water relations of timothy grass (*Phleum pratense*) under drought conditions. **Environmental Pollution**, London, v. 66, n. 2, p. 117-138, 1990.

LUNN, J. E.; MACRAE, E. New complexities in the synthesis of sucrose. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 6, p. 208-214, 2003.

MARANHO, L. T.; GALVÃO, F.; PREUSSLER, K. H.; MUÑIZ, G. I. B.; KUNIYOSHI, Y. S. Efeitos da poluição por petróleo na estrutura da folha de *Podocarpus lambertii* Klotzsch ex Endl., Podocarpaceae. **Acta Botanica Brasilica**, Belo Horizonte, v. 20, n. 3, p. 615-624, 2006.

MATEOS, A. C.; GONZALEZ, C. M. Physiological response and sulfur accumulation in the biomonitor *Ramalina celastri* in relation to the concentrations of SO₂ and NO₂ in urban environments. **Microchemical Journal**, New York, v. 125, p. 116-123, 2016.

MAUGH II, T.H. SO₂ pollution may be good for plants. **Science**, Washington, v. 205, n. 4404, p. 383, 1979.

MELO, H. C.; CASTRO, E. M.; SOARES, A. M.; MELO, L. A.; ALVES, J. D. Alterações anatômicas e fisiológicas em *Setaria anceps* Stapf ex Massey e *Paspalum paniculatum* L. sob condições de déficit hídrico. **Hoehnea**, São Paulo, v. 34, p. 145-153, 2007.

MITROVIĆ, M.; PAVLOVIĆ, P.; DJURDJEVIĆ, L.; GAJIĆ, G.; KOSTIĆ, O.; BOJOVIĆ, S. Differences in norway maple leaf morphology and anatomy among polluted (Belgrade City Parks) and unpolluted (Maljen MT.) landscapes. **Ekológia**, Moskva, v. 25, n. 2, p. 126-137, 2006.

MONDAL, D.; GUPTA, D. S.; DATTA, J. Anticipated performance index of some tree species considered for green belt development in an urban area. **International Research Journal of Plant Science**, Sapele, v. 2, n. 4, p. 99-106, 2011.

MORAES, R. M.; DELITTI, W. B. C.; MORAES, J. A. P. V. Respostas de indivíduos jovens de *Tibouchina pulchra* Cogn. à poluição aérea de Cubatão, SP: fotossíntese líquida, crescimento e química foliar. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 23, n. 4, p. 443-449, 2000.

MORAES, R. M.; KLUMPP, A.; FURLAN, C. M.; KLUMPP, G.; DOMINGOS, M.; RINALDI, M. C. S.; MODESTO, I. F. Tropical fruit trees as bioindicators of industrial air pollution in southeast Brazil. **Environmental International**, Amsterdam, v. 28, p. 367-374, 2002.

MUNEER, S.; KIM, T. H.; CHOI, B. C.; LEE, B. S.; LEE, J. H. Effect of CO, NO_x and SO₂ on ROS production, photosynthesis and ascorbate–glutathione pathway to induce *Fragaria x annasa* as a hyperaccumulator. **Redox Biology**, Amsterdam, v. 2, p. 91-98, 2014.

MUNEER, S.; LEE, B. R.; BAE, D. W.; KIM, T. H. Changes in expression of proteins involved in alleviation of Fe-deficiency by sulfur nutrition in *Brassica napus* L. **Acta Physiologiae Plantarum**, Warsaw, v. 35, n. 10, p. 3037-3045, 2013.

NAKAZATO, R. K.; RINALDI, M. C. S.; DOMINGOS, M. Tropical trees: Are they good alternatives for biomonitoring the atmospheric level of potential toxic elements near to the Brazilian Atlantic Rainforest? **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Amsterdam, v. 134, p. 72-79, 2016.

NAVARRO, L. A.; DUARTE, L.; KLEIN, R. C.; HEUSER, E. D. Caracterização dos cristais de oxalato de cálcio nas partes reprodutivas e vegetativas aéreas de *Ilex paraguariensis* A. St. Hil. (Aquifoliaceae). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 1, p. 762-764, 2007.

OGUNKUNLE, C. O.; ABDULRAHMAN, A. A.; FATOBA, P. O. Influence of cement dust pollution on leaf epidermal features of *Pennisetum purpureum* and *Sida acuta*. **Environmental and Experimental Biology**, Latvia, v. 11, 73-79, 2013.

OLIVA, M. A.; FIGUEIREDO, J. G. de. Gramíneas bioindicadoras da presença de flúor em regiões tropicais. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 28, n. 2, p. 389-397, 2005.

PALLARDY, S. G. **Physiology of woody plants**. 3.ed. San Diego: Elsevier/Academic, 2008. 454 p.

PANDE, P. C.; MANSFIELD, T. A. Responses of spring barley to SO₂ and NO₂ pollution. **Environmental Pollution**, London, v. 38, p. 87-97, 1985.

PANDEY, J. Evaluation of air pollution phytotoxicity downwind of a phosphate fertilizer factory in India. **Environmental Monitoring and Assessment**, Amsterdam, v. 100, p. 249-266, 2005.

PANDEY, J.; PANDEY, U. Evaluation of air pollution phytotoxicity in a seasonally dry tropical urban environment. **Environmental Monitoring and Assessment**, Amsterdam, v. 33, p. 195-213, 1994.

PATHAK, H; PANCHOLI, K. Effect of air pollution on foliar morphology of some tree species at Indore, Madhya Pradesh, India. **Journal of Environmental Research and Development**, Bophal, v. 8, n. 3A, p. 669-672, 2014.

PATIDAR, S.; BAFNA, A.; BATHAM, A.R.; PANWAR, K. Impact of urban air pollution on photosynthetic pigment and proline content of plants growing along the A.B road Indore City, India. **International Journal Current Microbiology Applied Science**, Tamilnadu, v. 5, n. 3, p. 107-113, 2016.

PEDROSO, A. N. V.; ALVES, E. S. Anatomia foliar comparativa das cultivares de *Nicotiana tabacum* L. (Solanaceae) sensível e tolerante ao ozônio. **Acta Botânica Brasilica**, Belo Horizonte, v. 22, n. 1, p. 21-28, 2008.

PEDROSO, A. N.; ALVES, E. S. Temporal dynamics of the cellular events in tobacco leaves exposed in São Paulo, Brazil, indicate oxidative stress by ozone. **Environmental Science Pollution Research**, Heidelberg, v. 22, n. 9, p. 6535-6545, 2015.

PERRY, C. T.; DIVAN JR, A. M.; RODRIGUEZ, M. T.; ATZ, V. L. *Psidium guajava* as a bioaccumulator of nickel around a oil refinery, Southern Brazil. **Ecotoxicology Environmental Safety**, Amsterdam, v. 73, p. 647-654, 2008.

PFANZ, H.; MARTINOIA, E.; LANGE, O. L.; HEBER, U. Flux of SO₂ into leaf cells and cellular acidification by SO₂. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 85, p. 928-933, 1987.

PINA, J. M.; SOUZA, S. R.; MEIRELLES, S. T.; MORAES, R. M. *Psidium guajava* Paluma responses to environmental conditions and ozone concentrations in the urban forest of São Paulo, SE- Brazil. **Ecological Indicators**, St Louis, v. 77, p. 1-7, 2017.

PRAJAPATI, S. K.; TRIPATHI, B. D. Seasonal variation of leaf dust accumulation and pigment content in plant species exposed to urban particulates pollution. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 37, p. 865-870, 2008.

PRIYANKA, C.; DIBYENDU, B. Biomonitoring of quality in the industrial town of asansol using the air pollution tolerance index approach. **Research Journal of Chemistry and Environment**, Indore, v. 13, n. 1, p. 46-51, 2009.

QAYOOM MIR, A.; YAZDANI, T.; NARAIN, A. K. K.; YUNUS, M. Vehicular population and pigment content of certain avenue trees. **Pollution Research**, New Delhi, v. 27, n. 1. p. 59-63, 2008.

RABE, R.; KREEB, K. H. Bioindication of air pollution by chlorophyll destruction in plant. **Oikos**, Lund, v. 34, n. 2, p. 163-167, 1980.

RAI, P. K. Impacts of particulate matter pollution on plants: implications for environmental biomonitoring. **Ecotoxicology Environmental Safety**, Amsterdam, v. 129, p. 120-136, 2016.

RAI, P. K.; PANDA, L. L. S. Roadside plants as bio indicators of air pollution in an industrial region, Rourkela, India. **International Journal of Advancements in Research and Technology**, v. 4, n. 1, p. 14-36, 2015.

RAO, D. N.; LEBLANC, F. Effects of SO₂ on the lichens alga with special reference to chlorophyll. **Bryologist**, Washington, v. 69, p. 69-75, 1966.

RENNENBERG, H.; HERSCHBACH, C.; POLLE, A. Consequences of fair pollution on shoot-root interactions. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 148, n. 1, p. 269-301, 1996.

RHIMI, N.; MEZGHANI, I.; ELLOUMI, N.; NASRI, M.; ABDALLAH, F. B. Morphological and anatomical responses of pear and almond trees to fluoride air pollution. **Research Report Fluoride**, Warren, v. 49, n. 2, p. 156-164, 2016.

RIDELL, J.; PADGETT, P. E.; NASH, T. H. Physiological responses of lichens to factorial fumigations with nitric acid and ozone. **Environmental Pollution**, London, v. 170, p. 202-210, 2012.

ROCHA, L. D.; PREUSLER, K. H.; PEGORINI, F.; FARIAS, V. de; MARANHÃO, L. T. Estudo anatômico comparativo da casca do caule do araçá-amarelo e araçá-vermelho, *Psidium cattleianum* Sabine, Myrtaceae. **Acta Botanica Brasilica**, Belo Horizonte, v. 22, n. 4, p. 1114-1122, 2008.

ROCHA, D. I.; SILVA, L. C. DA; PEREIRA, E. G.; SANT'ANNA-SANTOS, B. F.; GONTIJO, E. R.; OLIVA, M. A. Early detection of injuries in leaves of *Clusia hilariana* Schtdl. (Clusiaceae) caused by particulate deposition of iron. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 38, n. 3, p.423-432, 2014.

RODRIGUES, M. S.; RAYA-RODRIGUEZ, M. T. M. Análise de risco ecológico com o uso do bioindicador *Lolium multiflorum*. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, Itajaí, v. 7, n. 1, 9-13, 2012.

RODRIGUEZ, J. H.; WELLER, S. B.; WANNAZ, E. D.; KLUMPP, A.; PIGNATA, M. L. Air quality biomonitoring in agricultural areas nearby to urban and industrial emission sources in Córdoba province, Argentina, employing the bioindicator *Tillandsia capillaris*. **Ecological Indicators**, St. Louis, v. 11, p. 1673-1680, 2011.

ROSA, M.; PRADO, C.; PODAZZA, G.; INTERDONATO, R.; GONZÁLEZ, J. A.; HILAL, M.; PRADO, F. E. Soluble sugars. **Plant Signaling e Behavior**, Philadelphia, v. 4, n. 5, 388-393, 2009.

SAEG. **Sistema para análises estatísticas**. Versão 9.1, Viçosa: Fundação Arthur Bernardes, 2007. (CD-ROM).

SAFDARI, V.; AHMED, M.; DEVAL, M. S.; BAYRAMZADEH, V. Effects of air pollution on morphological and anatomical characteristics of *Pinus eldarica* wood. **FUUAST Journal of Biology**, Karachi, v. 2, n. 2, 5-12, 2012.

SANDRIN, C. Z.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. C. L.; CARVALHO, M. A. M.; DELITTI, W. B. C.; DOMINGOS, M. Sub-tropical urban environment affecting content and composition of nonstructural carbohydrates of *Lolium multiflorum* ssp. *italicum* cv. Lema. **Environmental Pollution**, London, v. 156, p. 915-921, 2008.

SANT'ANNA-SANTOS, B. F.; SILVA, L. C.; AZEVEDO, A. A.; AGUIAR, R. Effects of simulated acid rain on leaf anatomy and micromorphology of *Genipa americana* L. (Rubiaceae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 49, n. 2, p. 313-321, 2006a.

SANT'ANNA-SANTOS, B. F.; SILVA, L. C.; AZEVEDO, A. A.; ARAÚJO, J. M.; ALVES, E. F.; SILVA, E. A.; AGUIAR, R. Effects of simulated acid rains on the foliar micromorphology and anatomy of tree tropical species. **Environmental and Experimental Botany**, Amsterdam, v. 58, p. 158-168, 2006b.

SANTOS, O. M.; GUEDES, M. L. S.; ARAÚJO, C. V. M. Potencial de espécies vegetais nativas do pólo industrial de Camaçari (BA, Brasil) como acumuladoras de elementos químicos contidos na poluição atmosférica. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, Itajaí, v. 7, n. 1, p. 15-20, 2012.

SEGMA – Engenharia de Segurança do Trabalho e Meio Ambiente Ltda. Relatório Técnico nº 257/10 – **Estudo de dispersão de poluentes da Magnesita Brumado**. 2010. 31 p.

SEYYEDNEJAD, S. M.; NIKNEJAD, M.; YUSEFI, M. The effect of air pollution on some morphological and biochemical factors of *Callistemon citrinus* in Petrochemical zone in South of Iran. **Asian Journal of Plant Sciences**, Faisalābād, v. 8, p. 562-565, 2009.

- SEYYEDNEJAD, S. M.; NIKNEJAD, M.; KOOCHAK, H. A review of some different effects of air pollution on plants. **Research Journal of Environment Sciences**, Indore, v. 5, n. 4, p. 302-309, 2011.
- SIEGWOLF, R. T. W. Stable isotope analysis reveals differential effects of soil nitrogen and nitrogen dioxide on the water use efficiency of hybrid poplar leaves. **New Phytologist**, London, v. 149, n. 2, p. 233 - 246 2001.
- SILVA, L. C.; ARAUJO, T. O.; MARTINEZ, C. A.; LOBO, F. A.; AZEVEDO, A. A.; OLIVA, M. A. Differential responses of C3 and CAM native Brazilian plant species to a SO₂⁻ and SPM_{Fe}⁻ contaminated Restinga. **Environmental Science Pollution Research**, Berlin, v. 22, n. 18, p. 14007-14017, 2015.
- SILVA, L. C.; OLIVA, M. A.; AZEVEDO, A. A.; ARAÚJO, J. M.; AGUIAR, R. M. Micromorphological and anatomical alterations caused by simulated acid rain in Restinga plants: *Eugenia uniflora* and *Clusia hilariana*. **Water, Air, and Soil Pollution**, Amsterdam, v. 168, p. 129-143, 2005.
- SILVA, L. D. S. A. B.; MEDEIROS, J. D. Comparative leaf anatomy of *Psidium cattleyanum* Sab. (Myrtaceae). **INSULA**, Florianópolis, v. 34, p. 15-38, 2005.
- SILVA, L. C.; OLIVA, M. A.; AZEVEDO, A. A.; ARAUJO, J. M. Responses of Restinga plant species to pollution from an iron pelletization factory. **Water, Air, and Soil Pollution**, Amsterdam, v. 175, p. 241-256, 2006.
- SILVA, S. F.; MEIRELLES, S. T.; MORAES, R. M. The guava tree as bioindicator during the process of fuel replacement of an oil refinery. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Amsterdam, v. 91, p. 39-45, 2013.
- SOUZA, A. S.; SANDRIN, C. Z.; MORAES, M. G.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. de C. L. Diurnal variations of non-structural carbohydrates in vegetative tissues of *Melinis minutiflora*, *Echinolaena inflexa* and *Lolium multiflorum* (Poaceae). **Revista Brasileira Botânica**, São Paulo, v. 28, n. 4, p. 755-763, 2005.
- STEVOVIĆ, S.; MIKOVILOVIĆ, V. S.; ČALIĆ-DRAGOSAVAC, D. Environmental impact on morphological and anatomical structure of Tansy. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 9, n. 16, p. 2413-2421, 2010.
- STREIT, N. M.; CANTERLE, M. W. C.; HECKTHEUER, L. H. H. As clorofilas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 3, p. 748-755, 2005.

SWAMI, A.; CHAUHAN, D. Impact of air pollution induced by automobile exhaust pollution on air pollution tolerance index (APTI) on few species of plants. **International Journal of Scientific Research**, Raipur, v. 4, n. 3, p. 342-343, 2015.

SZABO, A. V., DOMINGOS, M.; RINALDI, M. C. S.; DELITTI W. B. C. Acúmulo foliar de enxofre e suas relações com alterações no crescimento de plantas jovens de *Tibouchina pulchra* Cogn. (Melastomataceae) expostas nas proximidades do polo industrial de Cubatão, SP. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 26, n. 3, p. 379-390, 2003.

TAIZ, L.; MØLLER, I. M.; MURPHY, A.; ZEIGER, E. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 858 p.

THAWALE, P. R.; BABU, S. S.; WAKODE, R. R.; SINGH, S. K.; KUMAR, S.; JUWARKAR, A. A. Biochemical changes in plant leaves as a biomarker of pollution due to anthropogenic activity. **Environmental Monitoring and Assessment**, Amsterdam, v. 177, p. 527-535, 2011.

THOMAS, J. F.; HARVEY, C. N. Leaf anatomy of four species grown under continuous CO₂ enrichment. **Botanical Gazete**, Hanover, v. 144, n. 3, p. 303-309, 1983.

TRESMONDI, F.; ALVES, E.S. Structural changes in *Psidium guajava* 'Paluma' leaves exposed to tropospheric ozone. **Acta Botanica Brasilica**, Belo Horizonte, v. 25, n. 3, p. 542-548, 2011.

TZVETKOVA, N.; KOLAROV, D. Effect of air pollution on carbohydrate and nutrients concentrations in some deciduous tree species. **Bulgarian Journal of Plant Physiology**, Sófia, v. 22, n. 2, p. 53-63, 1996.

VIDAL, B. C. Acid glycosaminoglycans and endochondral ossification: microspectrophotometric evaluation and macromolecular orientation. **Cellular Molecular Biology**, Philadelphia, v. 22, p. 45-64, 1977.

VISKARI, E.L., HOLOPAINEN, T.; KÄRENLAMPI, L. Responses of spruce seedlings (*Picea abies*) to exhaust gas under laboratory conditions-II ultrastructural changes and stomatal behaviour. **Environmental Pollution**, London, v. 107, p. 99-107, 2000.

WELLBURN, A. R. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of

different resolution. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 144, p. 307-313, 1994.

WHITMORE, M. E.; FREER-SMITH, P. H. Growth effects of SO₂ and/or NO₂ on woody plants and grasses during spring and summer. **Nature**, London, v. 300, p. 55-57, 1982.

WOLF, G.; ASSIS, L. R.; PEREIRA, G. C.; CARVALHO, J. G.; CASTRO, E. M. Efeitos da toxicidade do zinco em folhas de *Salvinia auriculata* cultivadas em solução nutritiva. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 27, n. 1, p. 133-137, 2009.

WOO, S. Y.; JE, S. M. Photosynthetic rates antioxidant enzyme activity of *Plantanus occidentalis* growing under two levels of air pollution along the streets of seol. **Journal of Plant Biology**, Berlin, v. 49, n. 4, p. 315-319, 2006.

YEMM, E. W.; WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. **Biochemical Journal**, London, v. 57, p. 508-515, 1954.