

Aspectos morfoanatômicos da fitotoxidez do flúor em duas espécies arbóreas tropicais

Bruno Francisco Sant'Anna-Santos¹ e Aristéa Alves Azevedo²

Introdução

A degradação de diversas formações vegetais no entorno de alguns pólos industriais no Brasil encontra-se, significativamente, relacionada à presença de flúor na atmosfera, em consequência da atividade de fontes emissoras [1], especialmente fábricas de alumínio e cerâmicas [2].

Algumas espécies capazes de tolerar a presença de poluentes, ou biosensores, reagem discretamente aos efeitos da poluição, com sintomas não visíveis a olho nu, sendo, desta forma, fundamental a detecção de alterações utilizando-se técnicas microscópicas [3]. Já as espécies muito sensíveis, ou bioindicadores, reagem visualmente à ação de poluentes [3]. Entretanto, análises micromorfológicas e anatômicas podem auxiliar no diagnóstico precoce da injúria, antes do surgimento de sintomas visíveis.

Nos países em desenvolvimento, a falta de monitoramento, associada ao acréscimo nas emissões de poluentes atmosféricos, requer a adoção de métodos para o controle da qualidade do ar, incluindo a seleção de espécies bioindicadoras e/ou biosensoras adequadas ao clima local [1,2]. Dados baseados somente na análise visual dos sintomas podem subestimar o potencial de dada espécie para biomonitoramento [4], sendo a análise microscópica fundamental.

Desta forma, objetivou-se avaliar a sensibilidade de duas espécies arbóreas tropicais ao flúor (15mg.L⁻¹), *Joannesia princeps* Vell. (Euphorbiaceae) e *Spondias dulcis* Forst. F. (Anacardiaceae), através de parâmetros macroscópicos, associando-se as respostas morfológicas a aspectos microscópicos.

Material e métodos

Mudas de *Spondias dulcis* Forst. F. (Anacardiaceae) e *Joannesia princeps* Vell. (Euphorbiaceae) foram expostas, durante cinco e dez dias consecutivos, respectivamente, a 18,7mm diários de precipitação numa câmara de simulação seguindo metodologia adotada por Silva *et al.* [4]. A chuva com flúor foi preparada adicionando-se fluoreto de potássio em água deionizada (15mg.L⁻¹). No tratamento controle utilizou-se somente água deionizada pH=6,0. Diariamente, foram feitas observações e registros do aparecimento e localização das injúrias relacionadas à ação do flúor. Na análise visual foi considerada a quantidade de

folíolos injuriados, seguindo escala proposta por Silva *et al.* [4].

A altura das plantas foi avaliada antes e 24 horas após o experimento. Para a quantificação do conteúdo de flúor na matéria seca foram coletadas amostras foliares das plantas, 24 horas após a última chuva. As amostras foram previamente secas em estufa, a 70°C, e em seguida, moídas e submetidas à extração em ácido perclórico 0,1 M, utilizando-se o ajustador de força iônica para determinação potenciométrica do teor de flúor, com eletrodo específico. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com cinco repetições por tratamento.

Para os estudos microscópicos foram coletados fragmentos de porções sem injúria visual de cinco plantas, de cada uma das espécies, 24 horas após o término das simulações. Amostras de folhas em expansão destinadas à microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram fixadas em solução de glutaraldeído (2,5%), paraformaldeído (4%) em tampão cacodilato de sódio (pH 7,2) acrescido de cloreto de cálcio 5mM [5]. Posteriormente, as amostras foram pós-fixadas em tetróxido de ósmio 1%, desidratadas em série etílica e secas ao ponto crítico. Após cobertura com ouro, em metalizador Bal-Tec (modelo FDU010), o material vegetal foi documentado utilizando microscópio eletrônico de varredura Zeiss (modelo LEO 1430VP).

Para caracterização estrutural, amostras de folhas em expansão foram fixadas em FAA₇₀, desidratadas em série etílica/butílica e incluídas em parafina histológica. Cortes transversais, com 10µm de espessura foram obtidos em micrótomo rotativo (modelo Spencer 820). Os cortes foram desparafinizados, corados com fucsina básica (0,1%) e azul de astra (1%) e montados em Permount. As lâminas foram observadas e documentadas em fotomicroscópio Olympus (modelo AX70TRF).

Resultados

Seis dias após o início do tratamento, folhas de *J. princeps* apresentavam poucas áreas necrosadas em resposta ao flúor (Tabela 1). Já em *S. dulcis*, necroses marginais e apicais ocupavam grande parte das folhas 24 horas após a primeira chuva (Tabela 1). Cinco dias após o início do tratamento com flúor, as mudas de *S. dulcis* apresentaram intensa abscisão foliar, fato não observado para *J. princeps*.

O crescimento em altura foi 49% menor nas mudas de *J. princeps* expostas ao flúor, em comparação com o tratamento controle (Tabela 1), não sendo possível avaliar este parâmetro em *S. dulcis*, já que as plantas submetidas

1. Doutorando do Departamento de Biologia Vegetal, Universidade Federal de Viçosa. Av. PH Rolfs, s/n, Viçosa, MG, CEP 36570-000. E-mail: brunoufv@yahoo.com.br

2. Professor Adjunto do Departamento de Biologia Vegetal, Universidade Federal de Viçosa. Av. PH Rolfs, s/n, Viçosa, MG, CEP 36570-000. Apoio financeiro: CAPES.

ao poluente apresentaram aspecto retorcido após cinco dias de exposição ao poluente. O conteúdo de flúor na matéria seca foi cerca de quatro e 12 vezes maior do que no tratamento controle, em *J. princeps* e *S. dulcis*, respectivamente (Tabela 1).

A erosão das ceras epicuticulares foi observada nas duas espécies (Figs. 1B e 1D). *S. dulcis* exibiu uma maior frequência de alterações nas amostras observadas ao MEV, do que *J. princeps*, e uma maior diversidade de sintomas, como ruptura da crista estomática e colonização por fungos (Figs. 1D e 1E).

J. princeps apresentou, no tratamento com flúor, as células da epiderme com formato côncavo não-usual (Fig. 1G), quando comparada com o controle (Fig. 1F). O mesofilo, no tratamento controle, possui de cinco a seis camadas de células de parênquima lacunoso (Fig. 1F) observando-se, no tratamento com flúor, apenas três a quatro camadas (Fig. 1G), com expressiva redução na espessura da lâmina foliar, como mostrado nas figuras 1G e 1F (com mesma magnificação).

Nas folhas de *S. dulcis* também houve redução na espessura da secção transversal das folhas expostas ao poluente (Fig. 1I), em comparação com o tratamento controle (Fig. 1H). As células do floema, e do parênquima próximo ao feixe, apresentam-se colapsadas ocorrendo escurecimento da região, que se cora mais intensamente pela fucsina (Fig. 1K) possivelmente devido ao acúmulo de compostos fenólicos [4].

A maior intensidade de sintomas nas folhas de *S. dulcis* indicam maior susceptibilidade, provavelmente, por acumular mais flúor do que *J. princeps*. Em

algumas espécies vegetais existe uma relação entre o maior grau de injúria e as taxas elevadas de acúmulo [4]. O aparecimento de lesões características da influência deste elemento químico, além de danos microscópicos consideráveis, sugere a utilização de *J. princeps* no monitoramento de ambientes poluídos na condição de biosensora. Apesar dos sintomas visuais observados em *S. dulcis* e *J. princeps* já terem sido relatados por Silva *et al.* [4] em doses elevadas de flúor, este trabalho confirma sua sensibilidade em concentração duas vezes menor. *S. dulcis* tem se revelado uma espécie muito sensível ao flúor e estudos em campo estão sendo desenvolvidos para a avaliação do seu potencial na bioindicação de ambientes impactados por este poluente.

Referências

- [1] OLIVA, M.A. & FIGUEIREDO, J.G. 2005. Gramíneas bioindicadoras da presença de flúor em regiões tropicais. *Revista Brasileira de Botânica*, 28: 389-397.
- [2] WEINSTEIN, L.H. & DAVISON, A.W. 2003. Native plant species suitable as bioindicators and biomonitors for airborne fluoride. *Environmental Pollution*, 125: 3-11.
- [3] DE TEMMERMAN, L.; BELL, J.N.B.; GARREC, J.P.; KLUMPP, A.; KRAUSE, G.H.M. & TONNEIJCK, A.E.G. 2004. 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*. Cuvillier Verlag, Göttingen. p.337-373.
- [4] SILVA, L.C.; AZEVEDO, A.A.; SILVA, E.A.M. & OLIVA, M.A. 2000. Flúor em chuva simulada: sintomatologia e efeitos sobre a estrutura foliar e o crescimento de plantas arbóreas. *Revista Brasileira de Botânica*, 23: 383-391.
- [5] KARNOVISKY, M.J., 1965. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. *Journal of Cellular Biology*, 27: 27-137.

Tabela 1. Acúmulo de flúor, taxa de crescimento diário e sintomas visíveis observados em folhas de espécies arbóreas expostas a chuva com flúor (15mg.L^{-1}). Abreviaturas: * (não foi possível efetuar as medições devido ao aspecto retorcido das plantas), - (ausência de sintomas), + (necroses e cloroses em menos de 5% das folhas), +++ (necroses e cloroses entre 50 e 70% das folhas).

Espécies	Conteúdo de flúor na matéria seca ($\mu\text{g.g}^{-1}$)		Crescimento em altura (mm.dia^{-1})		Sintomas visíveis	
	<i>Joannesia princeps</i>	<i>Spondias dulcis</i>	<i>Joannesia princeps</i>	<i>Spondias dulcis</i>	<i>Joannesia princeps</i>	<i>Spondias dulcis</i>
Control e	0,97b	2,01b	1,14a	1,76	-	-
Flúor	4,05a	25,62a	0,58b	*	+	+++

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste F a 5% de probabilidade.

Figura 1. Efeitos do flúor na micromorfologia (Figs. 1A-1E) e estrutura foliar (Figs. 1F-1K) de *Joannesia princeps* e *Spondias dulcis*. Figs. 1A e 1B. *J. princeps*: face abaxial da epiderme. Fig. 1A. Tratamento controle: estômatos (seta). Fig. 1B. Flúor: ceras epicuticulares erodidas (*). Figs. 1C-1E. *S. dulcis*: face abaxial da epiderme. Fig. 1C. Tratamento controle: estômatos (seta). Figs. 1D e 1E. Flúor. Fig. 1D. Erosão de ceras epicuticulares (*) e hifa fúngica (seta). Fig. 1E. Ruptura da crista estomática (seta). Figs. 1F e 1G. *J. princeps*: secções transversais. Fig. 1F. Tratamento controle: região entre a margem e a nervura mediana. Fig. 1G. Flúor: células da epiderme com aspecto côncavo (seta) na face adaxial. Figs. 1H-1K. *Spondias dulcis*: Secções transversais. Fig. 1H. Tratamento controle: região entre a margem e a nervura mediana. Fig. 1I. Flúor: espessura da lâmina foliar reduzida. Fig. 1J. Tratamento controle: nervura mediana. Fig. 1K. Células plasmolisadas com acúmulo de compostos escuros. Abreviaturas: eb, face abaxial da epiderme; ed, face adaxial da epiderme; es, estômatos; pl, parênquima lacunoso; pp, parênquima paliçádico; xi, xilema.

