

SIMONE DE FÁTIMA CARVALHO RIBEIRO

**EFEITOS DA APLICAÇÃO DE FLÚOR SOBRE OS PROCESSOS FOTOSSINTÉTICOS
EM TRÊS ESPÉCIES LENHOSAS E NATIVAS DA REGIÃO DE OURO PRETO - MG**

Dissertação apresentada a Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

**VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2008**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

SIMONE DE FÁTIMA CARVALHO RIBEIRO

**EFEITOS DA APLICAÇÃO DE FLÚOR SOBRE OS PROCESSOS FOTOSSINÉTICOS
EM TRÊS ESPÉCIES LENHOSAS E NATIVAS DA REGIÃO DE OURO PRETO - MG**

Dissertação apresentada a Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 24 de Outubro de 2008

Prof^a Alessandra R. Kozovits
(Co-orientador)

Prof. José Cambraia
(Co-orientador)

Prof^a Luzimar Campos da Silva

Prof^a Kacilda Naomi Kuki

Prof. Marco Antônio Oliva Cano
(Orientador)

A minha querida mãe, por tudo o que representa pra mim, por ter sido responsável pela minha formação, e, que, mesmo não estando aqui presente, me deu forças pra vencer mais essa etapa da minha vida,

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal pela oportunidade de aprendizado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo.

Ao professor Marco Antônio Oliva, pela valiosa orientação e confiança.

À professora Alessandra Kozovits, pela paciência e colaboração em todas as etapas desse trabalho. À Universidade Federal de Ouro Preto pelo auxílio no transporte das mudas.

Ao professor José Cambraia pelas valiosas sugestões no trabalho.

Ao Instituto Estadual de Florestas (IEF), em especial ao Engenheiro Florestal Alberto Matos, pela concessão das mudas obtidas dos viveiros do Parque Estadual do Itacolomi e da Universidade Federal de Viçosa.

Aos técnicos, Rogério Gomide, João Bosco e Celso Antônio da Costa, pela grande ajuda na realização dos experimentos.

A todos os amigos da Unidade de Crescimento de Plantas - UCP, especialmente ao Eduardo Gusmão, Clenilso Senhen, Diego Carretero, Letícia da Costa, Carol Muller, Cláudio Meira, Rogério Ribas, Viviane Guzzo, pela grande ajuda nesse trabalho e pelo convívio agradável. À Claudínea Lizieri pelas conversas intermináveis e amizade sincera e inesperada.

À professora Kacilda Kuki pelas conversas, pelo bom humor e presteza sempre presentes.

À Elaine Calliman, pelo convívio agradável, os conselhos preciosos e por tornar meus dias em Viçosa mais alegres. Foi ótimo ter conhecido você.

Aos amigos de Ouro Preto e Belo Horizonte, a distância não enfraqueceu a amizade, só aumentou, e muito, a saudade que sinto de vocês.

À Ouro Preto - MG, cidade que já considero como “lar”, lugar que foi meu refúgio durante os momentos mais difíceis do curso de mestrado.

Ao Vinícius Terror, pelo companheirismo, amor, dedicação e paciência. Obrigada por me proporcionar momentos de paz e alegria, em meio a momentos de completa descrença.

À Paula Louise Carvalho Ribeiro e Dulce Andrade Carvalho, por incentivarem e acreditarem nos meus sonhos.

Em especial, à minha mãe, Eliana Andrade, por sempre estar ao meu lado e me guiar nos momentos mais difíceis da minha vida.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	vi
RESUMO	ix
ABSTRACT	xi
INTRODUÇÃO	13
MATERIAL E MÉTODOS	16
Espécies em estudo	16
Aplicação do tratamento com flúor	17
Avaliação das trocas gasosas	18
Determinação das variáveis da fluorescência da clorofila <i>a</i>	18
Fluorescência de imagem da clorofila <i>a</i>	19
Teor de pigmentos fotossintéticos	21
Determinação do teor de fluoreto na matéria seca das folhas	21
Concentração Letal	22
Análise dos dados	22
RESULTADOS	23
Sintomatologia e teor de flúor acumulado na MS	23
Trocas gasosas	25
Teor de pigmentos fotossintéticos	29
Fluorescência da clorofila <i>a</i>	33
Fluorescência de imagem da clorofila <i>a</i>	39
Concentração Letal (CL 50)	46
DISCUSSÃO	51
CONCLUSÃO	57
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Mapa indicando a localização geográfica da fonte emissora de flúor e a Estação Ecológica do Tripuí	16
Figura 2: Avaliação da área foliar contida em três categorias com o uso do filtro do programa Imaging Win v.2.25. A região em vermelho corresponde à área foliar inserida na categoria de valor estabelecido para análise de Fo	20
Figura 3: Área de amostragem escolhida na folha para a captura da imagem com o fluorômetro de imagem. a: a imagem da área de interesse da folha (AOI) corresponde ao quadrado. No AOI, foi traçada uma linha reta atravessando o limbo foliar e ligando uma margem à outra da folha. b: os valores de Fo e Fv/Fm foram calculados ao longo da linha. A partir desses valores, gráficos foram construídos mostrando a variação dos parâmetros ao longo da linha traçada	21
Figura 4: Sintomas causados pelo acúmulo de flúor nas folhas, após o término das aplicações dos nevoeiros simulados. A: <i>Panicum maximum</i> , B: <i>Schinus terebinthifolius</i> , C: <i>Tibouchina granulosa</i> , D: <i>Eremanthus erythropappus</i>	23
Figura 5: Teor de flúor em função do tempo em <i>P. maximum</i> (A), <i>E. erythropappus</i> (B), <i>S. terebinthifolius</i> (C) e <i>T. granulosa</i> (D)	24
Figura 6: Concentração máxima de flúor encontrada na matéria seca das folhas das espécies estudadas após 15 dias de exposições em <i>Panicum maximum</i> , e 30 dias de exposições em <i>Eremanthus erythropappus</i> , <i>Schinus terebinthifolius</i> e <i>Tibouchina granulosa</i>	25
Figura 7: Variação da taxa fotossintética (A), condutância estomática (B), Ci/Ca (C) e a transpiração (D) de <i>Panicum maximum</i> , ao longo de 15 dias de exposição	26
Figura 8: Variação da taxa fotossintética (A), condutância estomática (B), Ci/Ca (C) e a transpiração (D) de <i>Eremanthus erythropappus</i> , ao longo de 30 dias de exposição	27
Figura 9: Variação da taxa fotossintética (A), condutância estomática (B), Ci/Ca (C) e a transpiração (D) de <i>Schinus terebinthifolius</i> , ao longo de 30 dias de exposição	28
Figura 10: Variação da taxa fotossintética (A), condutância estomática (B), Ci/Ca (C) e a transpiração (D) de <i>Tibouchina granulosa</i> , ao longo de 30 dias de exposição	29
Figura 11: Variação nos teores de clorofila <i>a</i> e <i>b</i> , carotenóides, e razão Cla/Clb em <i>Panicum maximum</i>	30
Figura 12: Variação nos teores de clorofila <i>a</i> e <i>b</i> , carotenóides, e razão Cla/Clb em <i>Eremanthus erythropappus</i>	31
Figura 13: Variação nos teores de clorofila <i>a</i> e <i>b</i> , carotenóides, e razão Cla/Clb em <i>Schinus terebinthifolius</i>	32

Figura 14: Variação nos teores de clorofila <i>a</i> e <i>b</i> , carotenóides, e razão <i>Cl_a/Cl_b</i> em <i>Tibouchina granulosa</i>	33
Figura 15: Variação dos parâmetros de fluorescência da clorofila <i>a</i> em indivíduos de <i>Panicum maximum</i> , nos tratamento controle e 15 mg L ⁻¹ de NaF. A - fluorescência mínima (Fo), B- eficiência quântica máxima do PSII (Fv/Fm), C- taxa de transporte de elétrons (ETR), D- quenchinq fotoquímico (qP), E- quenchinq não fotoquímico (qN) e F- dissipação não fotoquímica (NPQ)	34
Figura 16: Variação dos parâmetros de fluorescência da clorofila <i>a</i> em indivíduos de <i>Eremanthus erythropappus</i> , nos tratamento controle e 15 mg L ⁻¹ de NaF. A - fluorescência mínima (Fo), B- eficiência quântica máxima do PSII (Fv/Fm), C- taxa de transporte de elétrons (ETR), D- quenchinq fotoquímico (qP), E- quenchinq não fotoquímico (qN) e F- dissipação não fotoquímica (NPQ)	36
Figura 17: Variação dos parâmetros de fluorescência da clorofila <i>a</i> em indivíduos de <i>Schinus terebinthifolius</i> , nos tratamento controle e 15 mg L ⁻¹ de NaF. A - fluorescência mínima (Fo), B- eficiência quântica máxima do PSII (Fv/Fm), C- taxa de transporte de elétrons (ETR), D- quenchinq fotoquímico (qP), E- quenchinq não fotoquímico (qN) e F- dissipação não fotoquímica (NPQ)	37
Figura 18: Variação dos parâmetros de fluorescência da clorofila <i>a</i> em indivíduos de <i>Tibouchina granulosa</i> , nos tratamento controle e 15 mg L ⁻¹ de NaF. A - fluorescência mínima (Fo), B- eficiência quântica máxima do PSII (Fv/Fm), C- taxa de transporte de elétrons (ETR), D- quenchinq fotoquímico (qP), E- quenchinq não fotoquímico (qN) e F- dissipação não fotoquímica (NPQ)	38
Figura 19: Porcentagem de área foliar dividida nas folhas de <i>Panicum maximum</i> , segundo as três categorias de valores adotados para as análises da fluorescência mínima (Fo) e a eficiência quântica máxima do PSII (Fv/Fm). As três categorias de valores adotados para análise de Fo: Fo(i) < 0,100, 0,100 <Fo(ii)< 0,180, Fo(iii) >0,180. As três categorias de valores adotados para análise de Fv/Fm: Fv/Fm(i) < 0,650, 0,650 <Fv/Fm(ii)< 0,790, Fv/Fm (iii) > 0,790	40
Figura 20: Porcentagem de área foliar dividida nas folhas de <i>Eremanthus erythropappus</i> , segundo as três categorias de valores adotados para as análises da fluorescência mínima (Fo) e a eficiência quântica máxima do PSII (Fv/Fm). As três categorias de valores adotados para análise de Fo: Fo(i) < 0,120, 0,120 <Fo(ii)< 0,180, Fo(iii) >0,180. As três categorias de valores adotados para análise de Fv/Fm: Fv/Fm(i) < 0,650, 0,650 <Fv/Fm(ii)< 0,790, Fv/Fm (iii) > 0,790	41
Figura 21: Porcentagem de área foliar dividida nas folhas de <i>Schinus terebinthifolius</i> , segundo as três categorias de valores adotados para as análises da fluorescência mínima (Fo) e a eficiência quântica máxima do PSII (Fv/Fm). As três categorias de valores adotados para análise de Fo: Fo(i) < 0,120, 0,120 <Fo(ii)< 0,180, Fo(iii) >0,180. As três categorias de valores adotados para análise de Fv/Fm: Fv/Fm(i) < 0,650, 0,650 <Fv/Fm(ii)< 0,790, Fv/Fm (iii) > 0,790	42

Figura 22: Porcentagem de área foliar dividida nas folhas de <i>Schinus terebinthifolius</i> , segundo as três categorias de valores adotados para as análises da fluorescência mínima (Fo) e a eficiência quântica máxima do PSII (Fv/Fm). As três categorias de valores adotados para análise de Fo: Fo(i) < 0,120, 0,120 < Fo(ii) < 0,180, Fo(iii) > 0,180. As três categorias de valores adotados para análise de Fv/Fm: Fv/Fm(i) < 0,650, 0,650 < Fv/Fm(ii) < 0,790, Fv/Fm (iii) > 0,790	43
Figura 23: Imagem da fluorescência da clorofila <i>a</i> de Fo e Fv/Fm em indivíduos de <i>Panicum maximum</i> e <i>Eremanthus erythropappus</i> dos tratamentos controle e 15 mg L ⁻¹ de flúor, medidos após o término do experimento. Os gráficos representam a variação dos valores de Fo e Fv/Fm ao longo da linha reta traçada, atravessando o limbo foliar	44
Figura 24: Imagem da fluorescência da clorofila <i>a</i> de Fo e Fv/Fm em indivíduos de <i>Schinus terebinthifolius</i> e <i>Tibouchina granulosa</i> dos tratamentos controle e 15 mg L ⁻¹ de flúor, medidos após o término do experimento. Os gráficos representam a variação dos valores de Fo e Fv/Fm ao longo da linha reta traçada, atravessando o limbo foliar.....	45
Figura 25: Alterações nos parâmetros fotossintéticos em função da concentração de flúor em <i>Panicum maximum</i> . A- taxa fotossintética (A), B- condutância estomática (gs), C- concentração interna de carbono (Ci), D- taxa de transporte de elétrons (ETR)	47
Figura 26: Alterações nos parâmetros fotossintéticos em função da concentração de flúor em <i>Eremanthus erythropappus</i> . A- taxa fotossintética (A), B- condutância estomática (gs), C- concentração interna de carbono (Ci), D- taxa de transporte de elétrons (ETR)	48
Figura 27: Parâmetros fotossintéticos em função da concentração de flúor em <i>S. terebinthifolius</i> . A- taxa fotossintética (A), B- condutância estomática (gs), C- concentração interna de carbono (Ci), D- taxa de transporte de elétrons (ETR)	49
Figura 28: Parâmetros fotossintéticos em função da concentração de flúor em <i>T. granulosa</i> . A- taxa fotossintética (A), B- condutância estomática (gs), C- concentração interna de carbono (Ci), D- taxa de transporte de elétrons (ETR)	50

RESUMO

RIBEIRO, Simone de Fátima Carvalho; MSc., Universidade Federal de Viçosa. Outubro de 2008.

Efeitos da aplicação de flúor sobre os processos fotossintéticos de três espécies lenhosas e nativas da região de Ouro Preto - MG. Orientador: Marco Antônio Oliva Cano. Co-orientadores: Alessandra R. Kozovits e José Cambraia.

A região de Ouro Preto - MG possui uma fonte isolada de emissão de fluoreto atmosférico, proveniente de uma siderurgia de alumínio. Nas proximidades dessa fábrica está localizada a Estação Ecológica do Tripuí (EET), área de preservação ambiental que se encontra entre os domínios da mata atlântica e do cerrado. O principal objetivo do trabalho foi avaliar os efeitos do flúor sobre parâmetros relacionados à fotossíntese, em três espécies nativas e representativas da vegetação existente na EET, *Eremanthus erythropappus* (DC) Macleish, *Tibouchina granulosa* (Desr.) Cogn. e *Schinus terebinthifolius* Raddi.. Foram testadas a sensibilidade e a capacidade acumuladora dessas espécies, assim como a relação entre o aparecimento de injúrias e o teor de flúor nas folhas. Uma espécie controle, *Panicum maximum* cv. colonião, que apresenta elevado teor de fluoreto nas folhas associado a elevada sensibilidade, também foi avaliada neste trabalho. O flúor foi aplicado diariamente, na forma de nevoeiros simulados com duração de vinte minutos, em uma câmara de simulação localizada na Unidade de Crescimento de plantas (UFV - MG). O tratamento com flúor foi preparado adicionando-se fluoreto de sódio (NaF) em água deionizada, na concentração de 15 mg L⁻¹ de flúor e no tratamento controle, utilizou-se somente água deionizada (pH=6,0). O experimento teve a duração de trinta dias e cada cinco dias, foram realizadas as medições dos parâmetros relacionados à fluorescência da clorofila *a* e trocas gasosas, além disso, amostras das folhas foram coletadas para a determinação do conteúdo de pigmentos fotossintéticos e a quantificação de flúor na matéria seca. Os primeiros sintomas manifestaram-se em *P. maximum* com apenas seis dias de exposição ao poluente. Em *T. granulosa* e *S. terebinthifolius* os primeiros sintomas surgiram, respectivamente, 23 e 25 dias após o início do experimento. Nessas espécies, observou-se o surgimento de clorose e necroses limitadas aos ápices e margens foliares. Alterações nos pigmentos podem ser importantes na indicação precoce da injúria pelo poluente, e foram observadas nas espécies desse estudo. Reduções na fotossíntese e na condutância estomática e o aumento na concentração interna de CO₂ foram vistos nos indivíduos de *P. maximum*, *T. granulosa* e *S. terebinthifolius* expostos ao tratamento com o flúor. Provavelmente, a redução observada nas

taxas fotossintéticas foi causada pelo fechamento estomático e degradação da estrutura dos cloroplastos. Nos indivíduos de *E. erythropappus* não houve redução nas taxas fotossintéticas em resposta ao poluente, porém observou-se a variação na fluorescência lenta ao término do tratamento. Em *T. granulosa* e *S. terebinthifolius* tanto a fluorescência lenta quanto a rápida sofreram alterações em resposta ao tratamento com o flúor. As imagens da fluorescência da clorofila *a* mostraram que os maiores danos causados pelo poluente se restringiram nas margens foliares, e também foi possível observar a tendência de redução na razão F_v/F_m e aumento no F_o nas plantas expostas ao poluente. No presente trabalho, as espécies apresentaram tolerância diferencial aos efeitos causados pelo poluente. *E. erythropappus* não apresentou variações nas taxas fotossintéticas, além disso, nenhum sintoma de injúria foliar e baixos teores de flúor na matéria seca foram observados ao final do tratamento, o que caracterizou essa espécie como a mais tolerante ao flúor dentre as espécies avaliadas nesse estudo.

ABSTRACT

RIBEIRO, Simone de Fátima Carvalho; MSc., Universidade Federal de Viçosa. October de 2008.

Effects of fluoride applications on process photosynthetic of three woody and native species of Ouro Preto region - MG. Adviser: Antônio Oliva Cano. Co-advisers: Alessandra R. Kozovits and José Cambraia.

Ouro Preto region (MG) receives atmospheric fluoride emission from an isolated source, an aluminum smelter. Around this fabric is located the Ecologic Station of Tripuí (EET), a preservation area limited by Atlantic forest and Savannah domains. The aim of this work was to evaluate fluoride effects on photosynthesis parameters of three native species from the EET vegetation: *Eremanthus erythropappus* (DC) Macleish, *Tibouchina granulosa* (Desr.) Cogn. and *Schinus terebinthifolius* Raddi. Species susceptibility and their accumulation capacity were tested, as well as the relation between leaf injuries and fluoride levels. Also, was used a control, *Panicum maximum* cv. Colonião, that exhibited high level of fluoride in young leaves and presented high sensibility. The plants were exposed to simulated fog with fluoride, during twenty minutes daily, for 30 consecutive days, at a simulation chamber, at the Plants Growing Unit (UFV- MG). Treatments were prepared by adding sodium fluoride (NaF) to deionized water, at a concentration of 15 mg L⁻¹, and control plants received only deionized water (pH=6,0). The parameters related to chlorophyll *a* and to gas exchange were measured every five days and leaf samples were collected to determine photosynthetic pigments content and to quantify fluoride in the dry matter. In *P. maximum* first symptoms appeared after six days of exposure to the polluted. *T. granulosa* and *S. terebinthifolius* exhibited fist symptoms, respectively, 23 and 25 days after the beginning of the experiment. In these both species, necrosis and chlorosis were limited to apical and marginal leaf blades. Pigments alterations, that can be an important indicative of early injuries, were also evaluated at the present study. *T. granulosa* e *S. terebinthifolius* showed, after fluoride exposure, the internal CO₂ concentration increases and photosynthesis and stomatal conductance decreases. Photosynthesis decreases were probably caused by stomata closure and chloroplast structure damages. Photosynthetic decreases rates were not observed in *E. erythropappus* but it presented variation on slow fluorescence, by the end of the treatment. Alterations on quick and slow fluorescence occurred, in both *T. granulosa* and *S. terebinthifolius*,

as a response of the fluoride treatment. Images of chlorophyll *a* fluorescence showed that most damages were restricted to marginal leaf areas, and also decreases at Fv/Fm ration and increase at the Fo were detected in plants exposed to the pollutant. The species of this work had differentiated tolerance to the pollutant. Photosynthetic rate variations were not observed in *E. erythropappu*, and neither injury leaf symptoms. Also, by the end of the treatment, it showed low level of fluoride in the dry matters, which, all together, characterize this species as the most tolerant to fluoride, among the ones studied. In contrast, *P. maximum* accumulated the highest fluoride level in the dry matter and it was high sensitive to the pollutant, showing leaf symptoms right after few days of exposure.

INTRODUÇÃO

A quantidade de flúor na atmosfera aumentou com a expansão da industrialização, sendo as produções de cerâmica, fertilizantes e as siderurgias de alumínio os principais responsáveis pelo incremento de grandes quantidades desse poluente nas proximidades dessas indústrias (Arndt *et al.* 1995, Walna *et al.* 2007).

Na região de Ouro Preto – MG está localizada uma fonte isolada de emissão de fluoreto proveniente da siderurgia de alumínio. Nas proximidades dessa indústria está inserida a Estação Ecológica do Tripuí (EET), área de preservação ambiental criada em 1978, localizada entre os domínios da mata atlântica e do cerrado. Para avaliar os efeitos acumulativos do flúor sobre a vegetação da EET, foram selecionadas três espécies nativas e com ampla representatividade nessa vegetação (Pedralli *et al.* 1997), *Eremanthus erythropappus*, *Tibouchina granulosa* e *Schinus terebinthifolius*. Para testar a sensibilidade e a tolerância ao poluente, as espécies escolhidas foram submetidas ao flúor aplicado na forma de nevoeiros simulados e foram comparadas a uma espécie controle, *Panicum maximum* cv. colônia, que apresenta elevado teor de fluoreto na rebrota associado a alta sensibilidade (Divan Junior *et al.* 2007).

O flúor é um poluente atmosférico de elevada fitotoxicidade e níveis tão baixos quanto $0,8 \mu\text{g m}^{-3}$ no ar podem causar injúrias em espécies sensíveis (Arndt *et al.* 1995). A sua absorção pelas plantas é realizada, principalmente, através das folhas. Na forma gasosa, ele penetra nos tecidos através dos estômatos e, em menor proporção, pela cutícula. Move-se via apoplasto no interior da folha, chegando até as margens e o ápice por meio da corrente transpiratória, promovendo injúrias (Miller 1993; Silva *et al.* 2000; Chaves *et al.* 2002). Inicialmente as áreas afetadas tornam-se cloróticas e com o passar do tempo o tecido morre formando uma área necrosada de cor parda, diminuindo assim a área foliar e, conseqüentemente, o crescimento das plantas (Fornasiero 2001).

Antes de causar efeitos visíveis, o flúor produz uma série de alterações fisiológicas e metabólicas na planta. Um dos efeitos mais relatados na literatura é a alteração na respiração celular causada pelo efeito inibitório do flúor sobre a enolase e assim, maior utilização da rota das pentoses. O poluente também pode atuar como desacoplador da fosforilação oxidativa mitocondrial, acelerando assim o fluxo de elétrons, porém sem a formação simultânea do gradiente de prótons (Ross *et al.* 1962; Miller 1993).

Em resposta à sua ação tóxica, Peixoto *et al.* (2005) observaram o aumento das atividades da peroxidase, polifenol oxidase e superóxido dismutase, evidenciando a ativação do metabolismo oxidativo nas plantas, resultando na acumulação de H₂O₂ e, por conseguinte, no aumento da peroxidação de lipídios. A alteração na composição de lipídios e, por meio desta, na interação entre a matriz lipídica e as proteínas solúveis da membrana, podem influenciar as funções metabólicas das membranas celulares (Malhotra & Khan 1984), incluindo a atividade de enzimas associadas às membranas como as H⁺-ATPases (Façanha & de Meis 1995, Reddy & Kaur 2008). A inibição da atividade da H⁺-ATPase conduz a alterações do transporte secundário de vários nutrientes e no vazamento de metabólitos através da membrana plasmática. A alteração no metabolismo de carboidratos devido à ação do flúor também já foi evidenciada (Divan Junior *et al.* 2007). A conversão de açúcares em amido parece ser influenciada pelo F⁻ pela indução ao acúmulo de pirofosfato (PPi), sendo o efeito dependente do compartimento celular onde ocorre o acúmulo de PPi (Viola & Davies 1991).

Os efeitos fisiológicos do poluente sobre as plantas são os mais variados, sendo que os mais importantes são aqueles que afetam o processo fotossintético (Nilsson & Brändén 1983; Giannini *et al.* 1985; Miller 1993). A formação de complexos com Mg²⁺ causa a inibição da síntese de clorofila e assim a redução nos teores de pigmentos fotossintéticos (McNulty & Newman 1961, Abdallah *et al.* 2006), além disso, também diminui a atividade carboxilativa da Rubisco, quando o cátion ativador é o magnésio (Nilsson & Brandén 1983).

A análise da cinética de indução da fluorescência rápida da clorofila *a* é um meio rápido e não-destrutivo de detectar alterações na eficiência fotoquímica do fotossistema II (PS II) ou na cadeia de transporte de elétrons em torno do PS II, causadas por situações de estresse (Rutherford *et al.* 1993; Boese *et al.* 1995). Boese *et al.* (1995) verificaram que a fluorescência rápida (Fo, Fm ou a razão Fv/Fm) não foi afetada pelo flúor, entretanto, a fase lenta foi significativamente alterada com a adição de concentrações crescentes do elemento, levando a um aumento na taxa do *quenching* fotoquímico e um decréscimo no *quenching* não-fotoquímico. Ballantyne & Glover (1981) mostraram o efeito do poluente sobre o fotossistema II em consequência da redução no transporte acíclico de elétrons, entretanto, Giannini *et al.* (1987) descreveram que o íon atua somente sobre o transporte acoplado de elétrons, sugerindo inibição de natureza química sobre a ATP sintase cloroplastídica.

No Brasil alguns poucos estudos têm abordado os efeitos tóxicos causados pelo flúor na vegetação nativa e no ecossistema tropical (Weinstein & Hansen 1988; Arndt *et al.* 1995; Klumpp *et al.* 1996, 1998; Silva *et al.* 2000; Oliva & Figueiredo 2005; Divan Junior *et al.* 2007, 2008). Divan Junior *et al.* (2008) analisando o teor de fluoreto em oito espécies herbáceas na região de Ouro Preto, coletadas em diferentes distâncias da fonte emissora, concluiu que nas proximidades da fábrica a vegetação apresentava sinais claros de contaminação por fluoreto, chegando a valores superiores a $1000 \mu\text{g g}^{-1}$. Níveis elevados de fluoreto na vegetação estiveram confinados a uma distância máxima de 0,4 km a noroeste e 2,8 km a leste da fonte emissora, os quais diminuíram exponencialmente à medida que a distância entre os locais de amostragem e a fábrica de alumínio aumentou.

O padrão de dispersão dos poluentes é determinado por fatores locais como a topografia, a direção e a velocidade dos ventos. Na região de Ouro Preto, o efeito do vento parece ser modelado pela topografia, onde a predominância do acúmulo de fluoreto na vegetação, na direção da Estação Ecológica do Tripuí (EET), deva-se à ocorrência freqüente de inversões térmicas nos vales estreitos onde o ar é retido e o fluoreto pode persistir por períodos prolongados.

O principal objetivo do trabalho foi avaliar os efeitos do flúor sobre parâmetros relacionados à fotossíntese, em três espécies nativas e representativas da vegetação existente na Estação Ecológica do Tripuí, *Eremanthus erythropappus*, *Tibouchina granulosa* e *Schinus terebinthifolius*. Dessa forma, pretende-se selecionar parâmetros biomarcadores que possibilitem o diagnóstico precoce de contaminação por fluoreto na vegetação nativa. Para tal, foram testadas a sensibilidade e a capacidade acumuladora dessas espécies, assim como a relação entre o aparecimento de injúrias e o teor de flúor nas folhas. Uma espécie controle, *Panicum maximum*, que apresenta elevado teor de fluoreto nas folhas associado a alta sensibilidade (Divan Junior *et al.* 2007), também foi avaliada neste trabalho.

MATERIAS E MÉTODOS

Material vegetal

Para o estudo foram selecionadas quatro espécies, sendo três delas, nativas e com ampla distribuição na vegetação existente na Estação Ecológica do Tripuí (Pedralli *et al.* 1997), que se encontra inserida nas proximidades da fonte poluidora, a uma distância de aproximadamente 2,8 Km (Fig. 1). As mudas de *Eremanthus erythropappus* (DC) Macleish (*Asteraceae*), *Tibouchina granulosa* (Desr.) Cogn. (*Melastomataceae*) e *Schinus terebinthifolius* Raddi. (*Anacardiaceae*) foram fornecidas pelos viveiros do IEF localizados no Parque Estadual do Itacolomi (Ouro Preto-MG) e na Universidade Federal de Viçosa (Viçosa-MG). Foram utilizados clones de *Panicum maximum* cv. colonião para a aplicação do tratamento.

As mudas com cerca de 30 cm foram transferidas para vasos de 2 litros e permaneceram 30 dias em casa de vegetação na Unidade de Crescimento de Plantas (UCP) da Universidade Federal de Viçosa para o período de aclimação e posterior aplicação do tratamento.

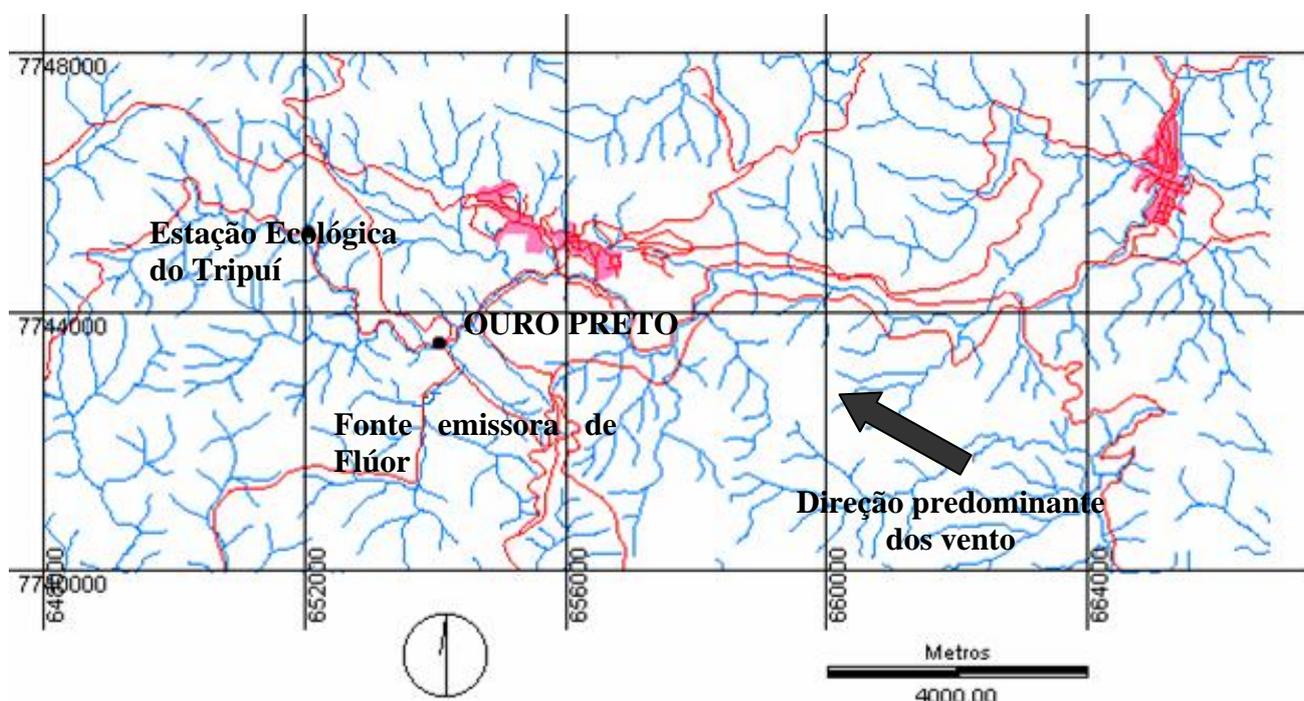


Figura 1: Mapa indicando a localização geográfica da fonte emissora de flúor e a Estação Ecológica do Tripuí. Fonte: Divan Junior *et al.* 2007.

Aplicação do tratamento com flúor

O flúor foi aplicado nas plantas na forma de nevoeiros simulados contendo solução de NaF na concentração de 15 mg L⁻¹ de flúor (pH6,0), durante o período de 30 dias. Esta concentração foi definida a partir de experimento preliminar onde foram utilizadas quatro concentrações de flúor, 0, 1, 6 e 12 mg L⁻¹. Nesse experimento preliminar as três espécies apresentaram grande resistência ao flúor, uma vez o aparecimento dos primeiros sintomas de injúrias foliares foi restrito ao tratamento com 12 mg L⁻¹ ao final de vinte dias de aplicações do poluente. Uma espécie, *E. erythropappus*, se destacou por não apresentar nenhum sintoma de injúria foliar aparente, com o término do experimento. A partir desses resultados, o segundo experimento foi executado com maior dosagem de flúor (15 mg L⁻¹) e maior tempo de exposição (30 dias) das plantas, também foi incluída uma espécie controle, o capim *P. maximum*. No tratamento controle, utilizou-se somente água deionizada (pH=6,0). As simulações de nevoeiro foram realizadas em câmara de simulação com o volume interno de 2,16 m³ (1,80 m de altura, 1,20 m de largura e 1,0 m de profundidade) e com bicos pulverizadores presentes no centro do teto num ângulo de pulverização de 60° e com vazão de 0,55 L min⁻¹, proporcionando a distribuição homogênea da chuva na base da câmara (Evans *et al.* 1977, Alves *et al.* 1990). As plantas foram expostas diariamente a nevoeiros com duração de vinte minutos, totalizando 5,22 mm dia⁻¹ de precipitação. Antes e depois da exposição, as plantas ficaram expostas a um painel luminoso composto por oito lâmpadas incandescentes de mercúrio (E-27, 220-230 V, 250 W) por 20 min sob densidade de fluxo radiante de 95 W m⁻². No restante do tempo, as plantas foram mantidas em casa de vegetação.

Devido aos sintomas avançados de injúria foliar apresentados por *P. maximum*, as simulações de nevoeiros nessa espécie tiveram a duração de apenas 15 dias.

A cada cinco dias foram realizadas medições *in vivo*, no tratamento controle e com 15 mg L⁻¹ de flúor, de parâmetros associados a trocas gasosas (n=5) e a fluorescência da clorofila *a* (n=5). Para as avaliações destrutivas, amostras de folhas foram coletadas, a cada 5 dias no tratamento com 15 mg L⁻¹ de flúor, para a avaliação do teor de flúor (n=5) e teor de pigmentos fotossintéticos (n=5). No tratamento controle, as análises destrutivas foram realizadas após o término do experimento.

Avaliação das trocas gasosas

As taxas de assimilação líquida de carbono (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condutância estomática (g_s , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), transpiração (E , $\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e a concentração de CO_2 no mesofilo (C_i , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$) foram obtidas por meio de um sistema de medição de trocas gasosas LI-6400 (LI-COR Biosciences Inc., Nebraska, USA) equipado com fonte de luz azul/vermelho modelo LI-6400-02B (LI-COR). As mensurações foram feitas sob concentração de CO_2 , temperatura e vapor de água do ambiente do local de estudo, sendo o ar de referência coletado a 1,50 m de altura do solo e homogeneizado em um galão de 20 litros antes de alcançar a câmara foliar. As folhas maduras selecionadas para a avaliação das trocas gasosas foram também utilizadas para a determinação das variáveis da fluorescência da clorofila a .

Determinação das variáveis da fluorescência da clorofila a

As medidas das variáveis da fluorescência da clorofila a foram obtidas utilizando o fluorômetro portátil modulado MINI-PAM (Walz, Effeltrich, Germany), equipado com pinça especial para suporte da folha modelo 2030-B (Bilger *et al.* 1995; Rascher *et al.* 2000). O rendimento quântico potencial do fotossistema II foi calculado após 30 minutos de adaptação ao escuro como $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$, em que F_0 era a fluorescência mínima, excitada por uma luz vermelha modulada de baixa intensidade ($0,03 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e F_m era a fluorescência máxima obtida pela aplicação de pulso de 0,8s de luz actínica saturante ($>6000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). O rendimento quântico efetivo do fotossistema II foi determinado por meio da sobreposição de pulso de saturação em folhas previamente adaptadas à luz ambiente, sendo calculado como $\Delta F/F_m' = (F_m' - F)/F_m'$, onde F era o rendimento de fluorescência antes do pulso de saturação e F_m' a fluorescência máxima durante o pulso de saturação. O $\Delta F/F_m'$ foi utilizado para estimar a taxa aparente de transporte de elétrons (ETR) de acordo com Bilger *et al.* (1995): $\text{ETR} = \Delta F/F_m' \times \text{DFF} \times 0,5 \times 0,84$, onde DFF é a densidade de fluxo de fótons ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) incidente sobre a folha, 0,5 o valor correspondente à fração da energia de excitação distribuída para o fotossistema II (FSII) (Laisk & Loreto 1996), e 0,84 o valor correspondente à fração de luz incidente que é absorvida pelas folhas (Ehleringer 1981). O coeficiente de extinção não-fotoquímica de Stern-Volmer foi calculado como $\text{NPQ} = (F_m - F_m')/F_m'$ (Bilger & Björkman 1990).

Fluorescência de imagem da clorofila *a*

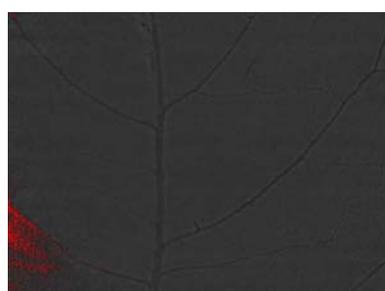
Os efeitos fotoinibitórios do flúor foram mensurados nos tratamentos controle e com 15 mg L⁻¹ de flúor, ao término do experimento, por meio de imagens de fluorescência obtidas com fluorômetro de imagem modelo IMAGING-PAM (Walz, Effeltrich, Germany), equipado com pinça especial para suporte da folha modelo IMAGUSH (Universal Sample Holder). Para máxima resolução espacial (640x480 pixels), as medidas foram realizadas com distância mínima entre a câmara (CCD) e a folha, o que corresponde uma imagem com área de 17 x 22 mm (area of interest - AOI). Após período de adaptação ao escuro, as imagens de fluorescência mínima (Fo) obtidas pela aplicação de pulsos de luz de baixa intensidade (1 Hz), e de fluorescência máxima, obtida por pulso saturante de luz azul (470 nm) de alta intensidade (10 Hz), foram determinadas e utilizadas para o cálculo eficiência quântica do fotossistema II (Fv/Fm).

Para a análise das imagens fornecidas foram estabelecidas três categorias de valores para os parâmetros de fluorescência mínima (Fo) e a eficiência quântica do PSII (Fv/Fm), e através do programa Imaging Win v.2.25, as porcentagens da área foliar contidas em cada categoria foram calculadas (Fig. 2). Para análise da eficiência quântica máxima do PSII (Fv/Fm), as categorias estabelecidas foram: Fv/Fm (i) valores abaixo de 0,650 (valores atribuído a regiões afetadas por algum tipo de estresse), Fv/Fm (ii) valores entre 0,650 e 0,790 e Fv/Fm (iii) somente com os valores superiores a 0,790 (valor atribuído a plantas saudias, sem nenhum tipo de estresse). Para a análise de Fo, em cada espécie estudada foram estabelecidas categorias diferentes (Tabela 1), uma vez que o Fo varia de acordo com a constituição do complexo antena e, portanto, é valor específico que varia por espécie.

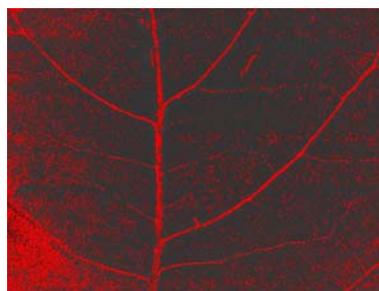
Para representar a distribuição das áreas afetadas ao longo da folha, com o uso do programa Imaging Win v.2.25 uma linha reta foi traçada atravessando a área de interesse (AOI), indo de uma margem à outra da folha. Ao longo dessa linha os valores de Fo e Fv/Fm foram calculados e, a partir deles, foram construídos gráficos com a variação dos parâmetros ao longo da linha (Fig. 3). As imagens e os valores dos parâmetros de fluorescência foram avaliados com a ajuda de uma escala de cores variando de 0 (preto) a 100 (rosa).

Tabela 1: Valores adotados para a análise da variação do Fo nas espécies em estudo, divididos em três categorias (i, ii e iii).

Espécies	Fo (i)	Fo (ii)	Fo (iii)
<i>P. maximum</i>	< 0,100	0,100 < X < 0,180	> 0,180
<i>E. erythropappus</i>	< 0,120	0,120 < X < 0,180	> 0,180
<i>S. terebinthifolius</i>	< 0,120	0,120 < X < 0,180	> 0,180
<i>T. granulosa</i>	< 0,100	0,100 < X < 0,150	> 0,150



Fo < 0,120



0,120 < Fo < 0,180



Fo > 0,180

Figura 2: Avaliação da área foliar contida em três categorias com o uso do filtro do programa Imaging Win v.2.25. A região em vermelho corresponde à área foliar inserida na categoria de valor estabelecido para análise de Fo.

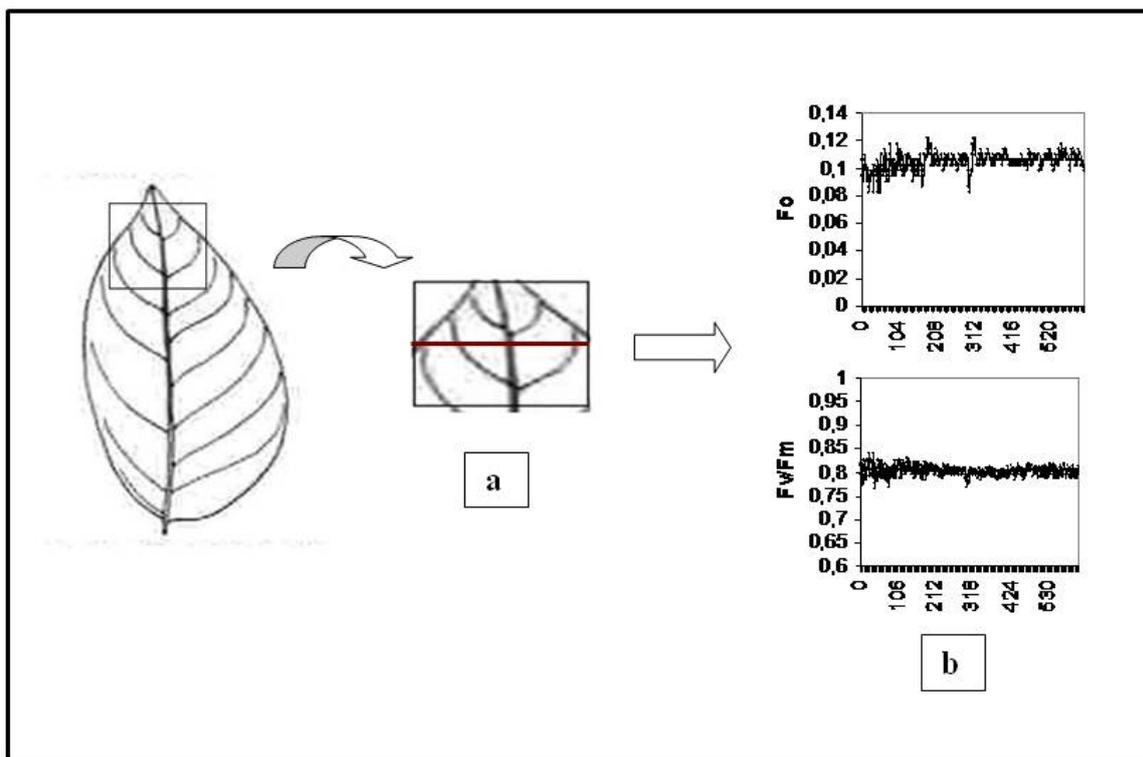


Figura 3: Área de amostragem escolhida na folha para a captura da imagem com o fluorômetro de imagem. **a:** a imagem da área de interesse da folha (AOI) corresponde ao quadrado. No AOI, foi traçada uma linha reta atravessando o limbo foliar e ligando uma margem à outra da folha. **b:** os valores de F_o e F_v/F_m foram calculados ao longo da linha. A partir desses valores, gráficos foram construídos mostrando a variação dos parâmetros ao longo da linha traçada.

Teor de pigmentos fotossintéticos

Para determinação dos teores de pigmentos, foram coletadas amostras dos mesmos folíolos utilizados para medição de trocas gasosas. Os dados dos teores de clorofila e carotenóides foram obtidos segundo o método proposto por Hiscox & Israelstam (1979). Três discos foliares de área conhecida foram retirados e imediatamente imersos em 5 mL de dimetilsulfóxido (DMSO), em tubos vedados e envoltos em papel alumínio. Os tubos foram mantidos no escuro, em temperatura ambiente por um período de aproximadamente 48 horas. Após a extração, a absorbância das amostras foi determinada a 480, 649 e 670 nm em espectrofotômetro de duplo feixe modelo Hitachi U-2000 (Hitachi Instruments Inc., Danbury, CT). O cálculo dos teores

de clorofila e carotenóides, expressos em $\mu\text{g mm}^{-2}$, foi realizado de acordo com as equações propostas por Wellburn (1994) para extratos em DMSO.

Concentração Letal (CL 50)

Para determinar qual o parâmetro foi mais afetado pela ação do flúor, foram realizadas análises de regressões determinando a concentração letal capaz de reduzir em 50% a taxa fotossintética (A), a condutância estomática (gs), a concentração interna de carbono (C_i), a taxa de transporte de elétrons (ETR) e o teor de clorofila a e b , nos tratamentos de 15 mg L^{-1} de flúor das quatro espécies.

Determinação do teor de fluoreto

Para a quantificação do teor de flúor, as folhas foram previamente secas em estufa, a 70°C , e reduzidas, em moinho do tipo Wiley, a partículas com dimensões inferiores a 1 mm. Posteriormente, amostras de 0,5 g, de cada repetição, foram submetidas à extração em ácido perclórico 0,1 M (Garcia-Ciudad *et al.* 1985), utilizando-se o analisador de íons (Larsen & Widdowson 1971), para determinação potenciométrica do teor de fluoreto, com eletrodo específico.

Análise dos dados

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com dois tratamentos (0 e 15 mg L^{-1}) e cinco blocos por tratamento, onde cada bloco correspondia a um repetição. No tratamento de 15 mg L^{-1} , cada bloco teve 6 réplicas e a cada 5 dias foram realizadas as análises destrutivas. No tratamento controle as análises destrutivas foram feitas após o término do experimento. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade utilizando o programa estatístico SPSS versão 7.0. Para as análises de regressão e construção dos gráficos foi usado o programa SigmaPlot 10.0.

RESULTADOS

Sintomatologia e teor de flúor acumulado

Os sintomas surgiram em indivíduos de *P. maximum* com seis dias de exposição ao nevoeiro com 15 mg L^{-1} de flúor. Nessa espécie, com cerca de $4,80 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ de flúor na matéria seca, houve o aparecimento de clorose que se iniciou na margem foliar, e com o passar dos dias, se estendeu por toda lâmina foliar (Fig. 4 A). Nos ápices foliares também foi evidenciado o aparecimento de necroses. Em *T. granulosa* os primeiros sintomas surgiram com 23 dias de exposição ao poluente e cerca de $5,10 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ de flúor na matéria seca. Primeiramente foi observada, a queda acentuada das folhas, e posteriormente, houve o aparecimento de clorose e necroses (coloração marrom). Sintomas de clorose internerval surgiram vinte e cinco dias após o início do experimento em *S. terebinthifolius* e com uma concentração de flúor de $6 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ MS, posteriormente, em algumas repetições, a clorose evoluiu para necrose com coloração marrom (Fig. 4 B). Nenhum sintoma foi observado em *E. erythropappus* após trinta dias de experimento (Fig. 4 D).



Figura 4: Sintomas causados pelo acúmulo de flúor nas folhas, após o término das aplicações dos nevoeiros simulados. A: *Panicum maximum*, B: *Schinus terebinthifolius*, C: *Tibouchina granulosa*, D: *Eremanthus erythropappus*.

O teor de fluoreto aumentou ao longo de todo o período de exposição das plantas de modo semelhante para as quatro espécies (Fig. 5). A absorção do poluente foi mais rápida em *P. maximum* (Fig. 5 A). Após 15 dias de exposições essa espécie apresentou as maiores concentrações de flúor $15,69 \mu\text{g g}^{-1}$. Em *E. erythropappus* a absorção do flúor foi realizada lentamente e, conseqüentemente, nessa espécie foram encontradas as menores concentrações de flúor na matéria seca, $5,19 \mu\text{g g}^{-1}$ MS (Fig. 6).

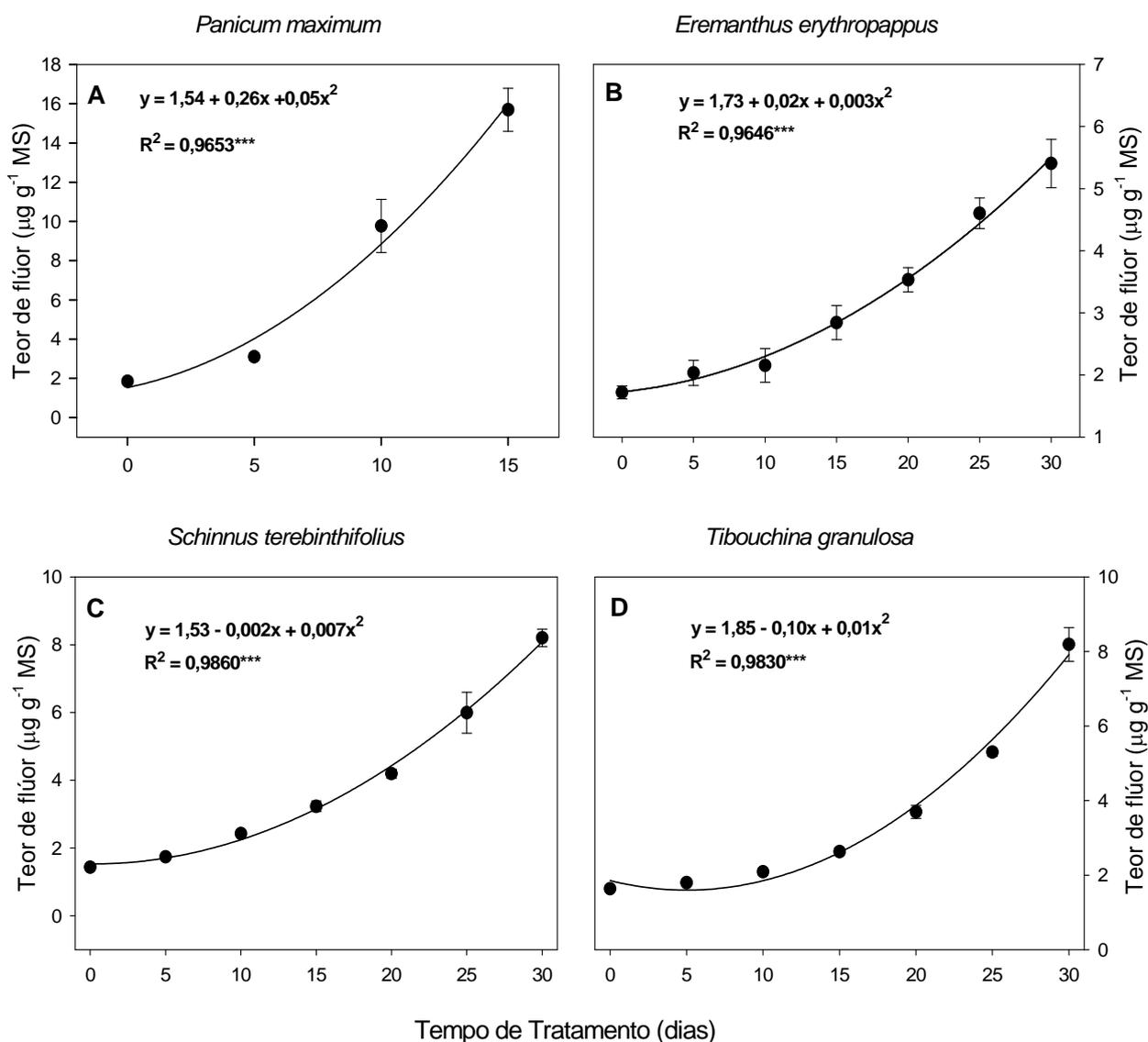


Figura 5: Teor de flúor em função do tempo em *P. maximum* (A), *E. erythropappus* (B), *S. terebinthifolius* (C) e *T. granulosa* (D). Os dados foram submetidos à análise de regressão apresentando modelo quadrático (* : $p < 0,05$; ** : $p < 0,001$; *** : $p < 0,0001$).

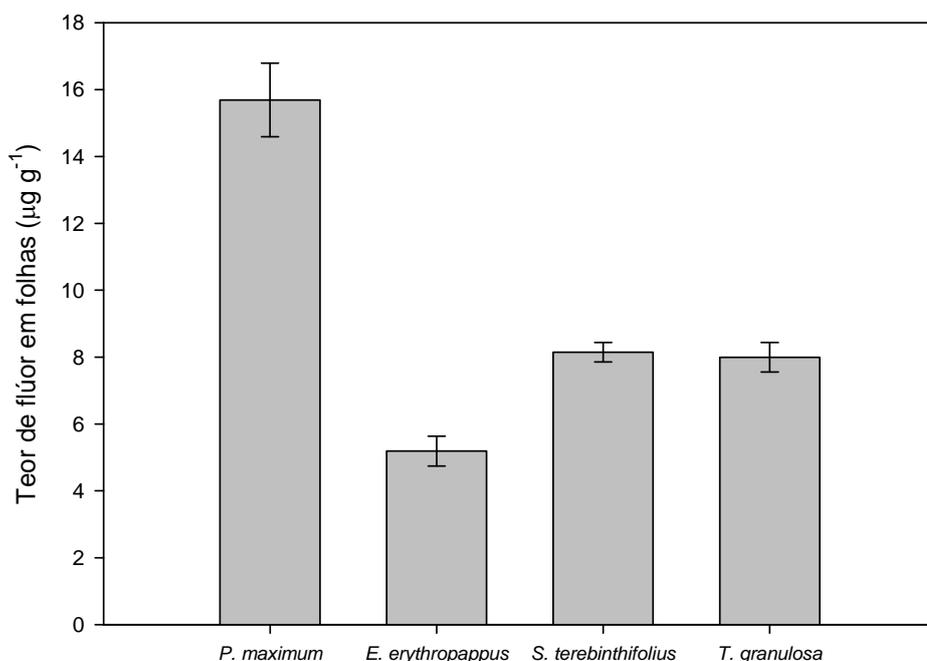


Figura 6: Concentração máxima de flúor encontrada na matéria seca das folhas das espécies estudadas após 15 dias de exposições em *Panicum maximum*, e 30 dias de exposições em *Eremanthus erythropappus*, *Schinus terebinthifolius* e *Tibouchina granulosa*.

Trocas gasosas

Com exceção de *E. erythropappus*, as demais espécies avaliadas mostraram decréscimo significativo na taxa fotossintética (*A*) em relação ao tratamento controle (Fig. 7, 8, 9 e 10). Em *P. maximum*, com 10 e 15 dias de exposição ao nevoeiro com 15 mg L⁻¹ de flúor, houve redução significativa de 38% e 50% na taxa fotossintética, respectivamente, em relação ao controle (Fig. 7 A). Após 15 dias de tratamento, a condutância estomática (*gs*) e a transpiração das plantas expostas ao flúor sofreram redução significativa de 42% 38%, respectivamente, em relação ao controle (Fig. 7 B, D).

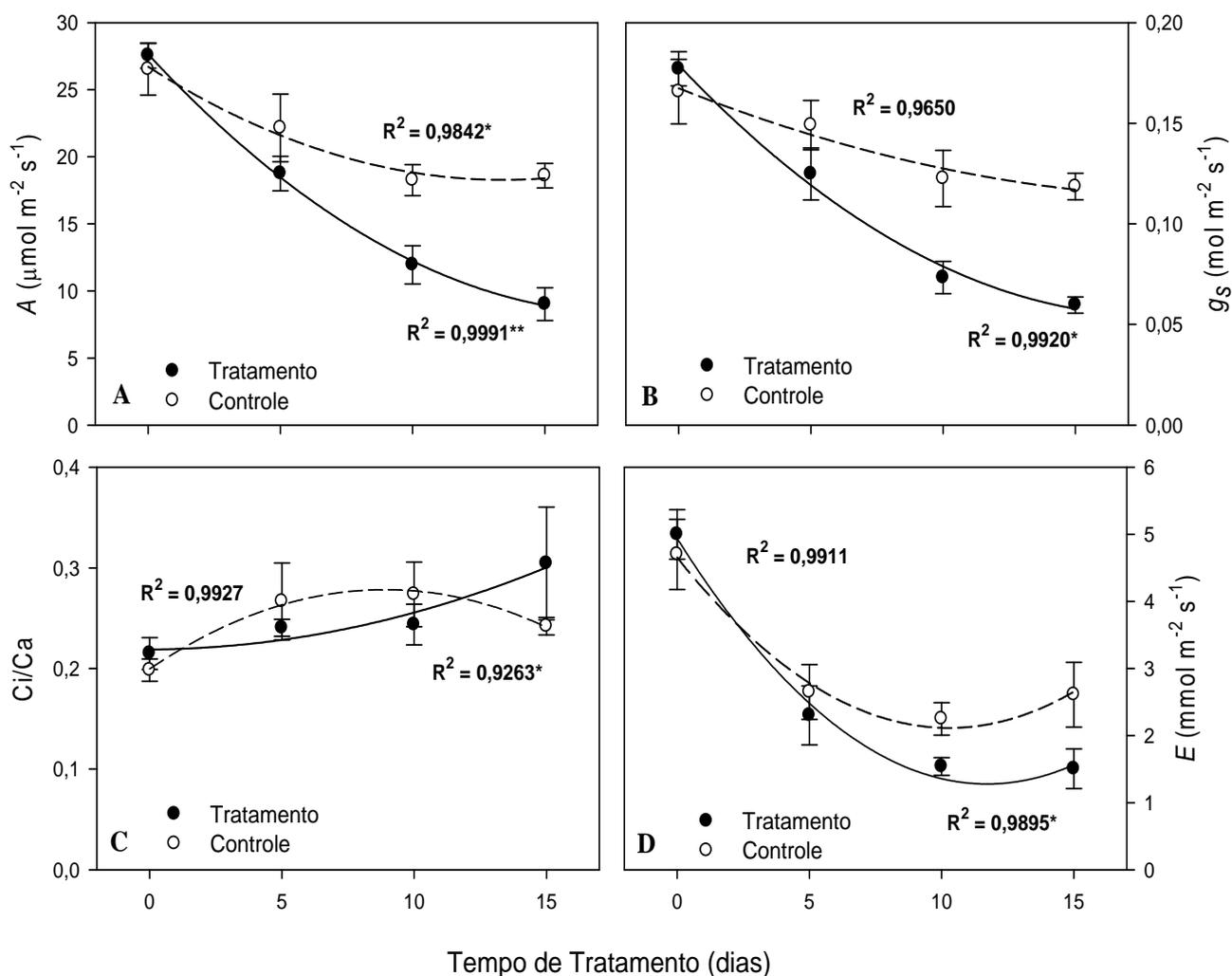


Figura 7: Variação da taxa fotossintética (A), condutância estomática (B), Ci/Ca (C) e a transpiração (D) de *Panicum maximum*, ao longo de 15 dias de exposição. Os dados foram submetidos à análise de regressão apresentando modelo quadrático (* : $p < 0,05$; ** : $p < 0,001$; *** : $p < 0,0001$). As linhas tracejadas correspondem ao tratamento controle e as linhas contínuas correspondem ao tratamento contendo 15 mg L^{-1} de NaF.

Em *E. erythropappus*, não foram observadas diferenças significativas na taxa fotossintética entre os tratamentos (Fig. 8 A). Houve aumento significativo na condutância estomática e na razão Ci/Ca, e redução da transpiração após 10 dias de exposição ao flúor nas plantas tratadas, porém, essas alterações significativas não se repetiram ao longo do tratamento (Fig. 8 B, C, D).

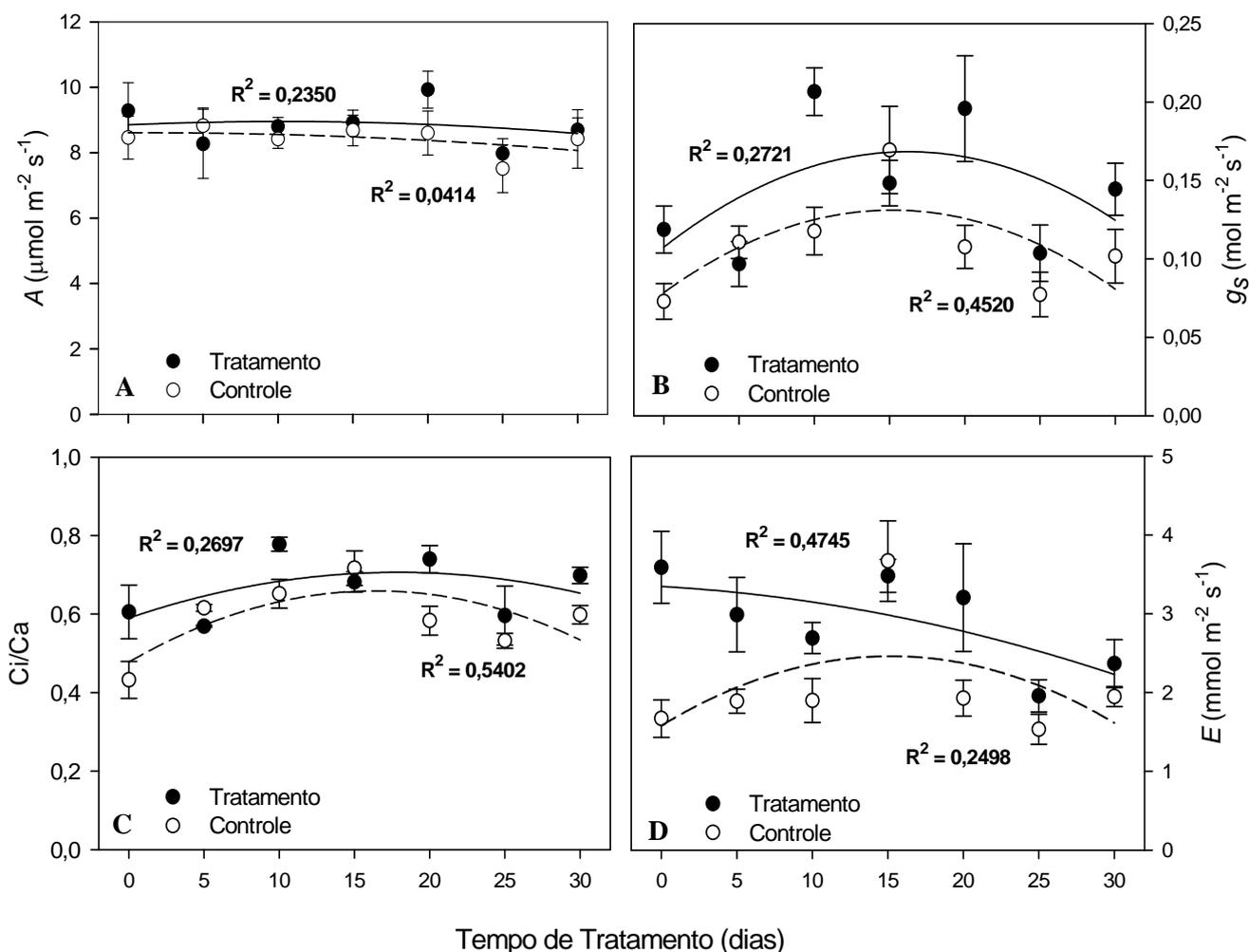


Figura 8: Variação da taxa fotossintética (A), condutância estomática (B), C_i/C_a (C) e a transpiração (D) de *Eremanthus erythropappus*, ao longo de 30 dias de exposição. Os dados foram submetidos à análise de regressão apresentando modelo quadrático (* : $p < 0,05$; ** : $p < 0,001$; *** : $p < 0,0001$). As linhas tracejadas correspondem ao tratamento controle e as linhas contínuas correspondem ao tratamento contendo 15 mg L^{-1} de NaF.

Nas plantas de *S. terebinthifolius* tratadas com 15 mg L^{-1} de flúor, com 15 dias de experimento a taxa fotossintética (A), a condutância estomática (g_s) e a transpiração (E) aumentaram 23%, 33% e 49%, respectivamente, em relação ao tratamento controle. Após 15 dias, esses parâmetros sofreram um decréscimo nas plantas expostas ao flúor, atingindo ao final do experimento, uma redução de 32%, 31% e 45%, em relação ao tratamento controle (Fig. 9 A, B, D). A razão C_i/C_a do tratamento contendo flúor foi superior ao tratamento controle (Fig. 9 C).

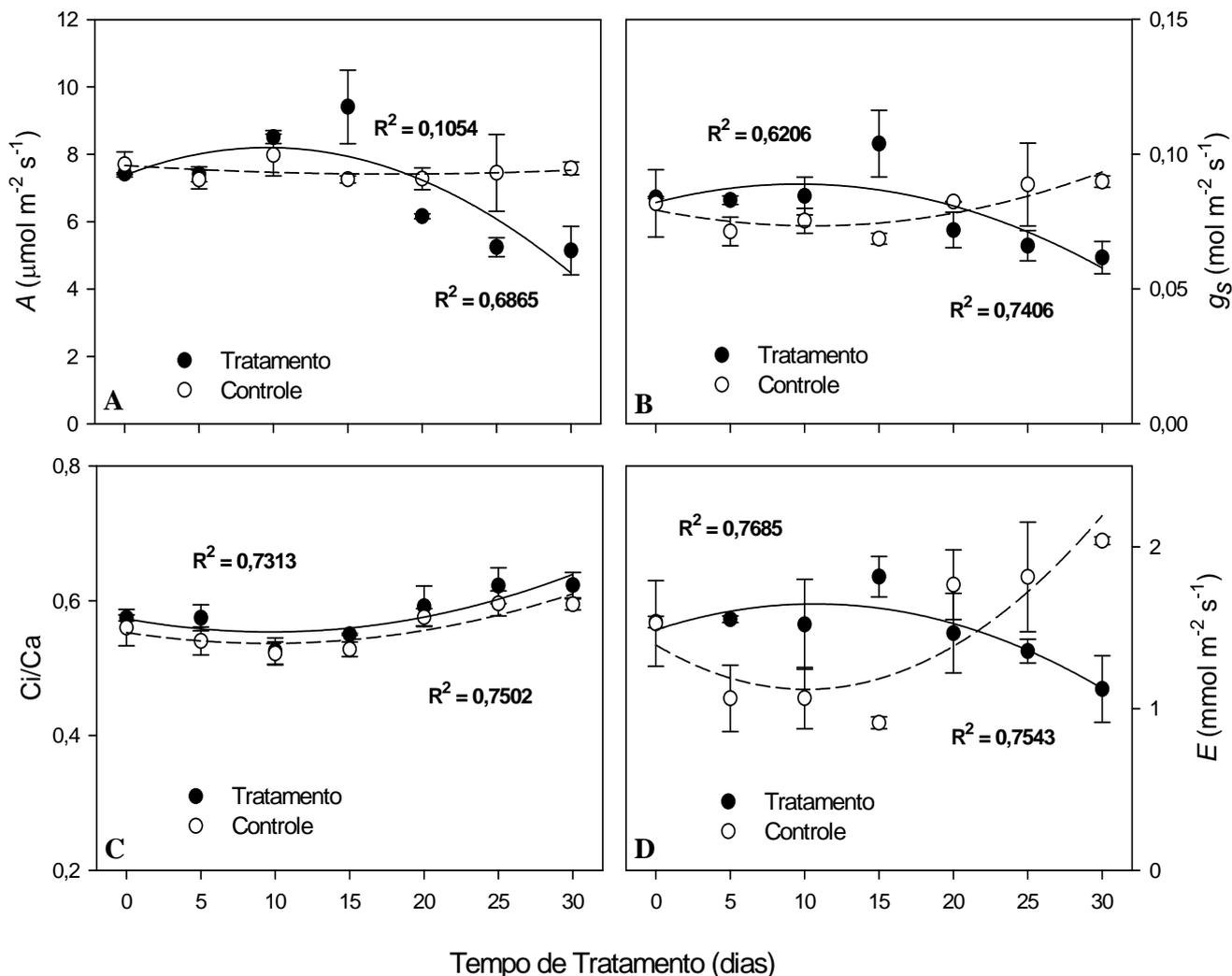


Figura 9: Variação da taxa fotossintética (A), condutância estomática (B), C_i/C_a (C) e a transpiração (D) de *Schinus terebinthifolius*, ao longo de 30 dias de exposição. Os dados foram submetidos à análise de regressão apresentando modelo quadrático (* : $p < 0,05$; ** : $p < 0,001$; *** : $p < 0,0001$). As linhas tracejadas correspondem ao tratamento controle e as linhas contínuas correspondem ao tratamento contendo 15 mg L^{-1} de NaF.

Nas plantas de *T. granulosa* expostas a 15 mg L^{-1} de flúor, ao final de 30 dias de tratamento, foram observadas reduções significativas de 62% da taxa fotossintética, 69% da condutância estomática e 52% na transpiração, enquanto a razão C_i/C_a não sofreu variações significativas em relação ao tratamento controle (Fig. 10).

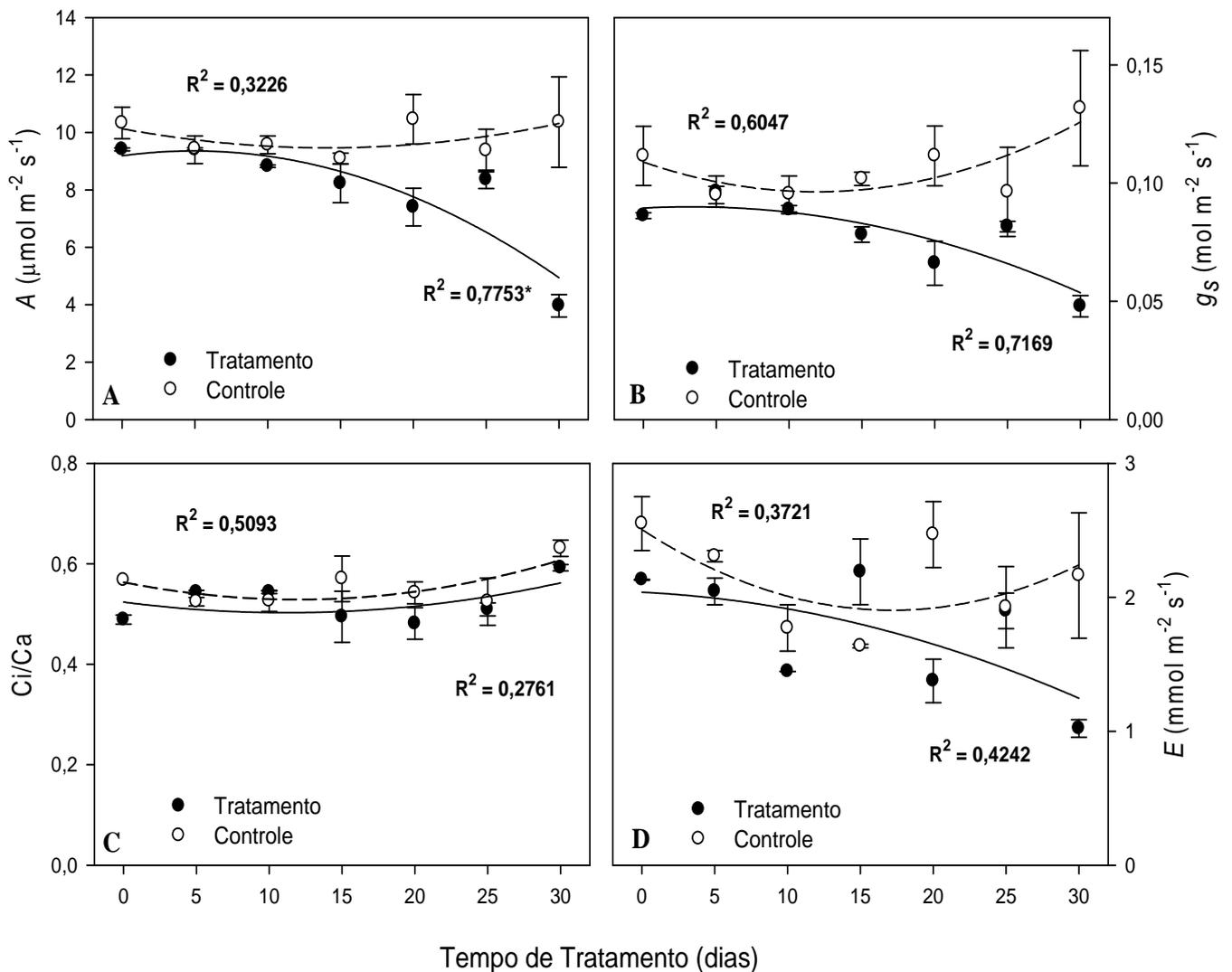


Figura 10: Variação da taxa fotossintética (A), condutância estomática (B), Ci/Ca (C) e a transpiração (D) de *Tibouchina granulosa*, ao longo de 30 dias de exposição. Os dados foram submetidos à análise de regressão apresentando modelo quadrático (* : $p < 0,05$; ** : $p < 0,001$; *** : $p < 0,0001$). As linhas tracejadas correspondem ao tratamento controle e as linhas contínuas correspondem ao tratamento contendo 15 mg L^{-1} de NaF.

Teor de pigmentos fotossintéticos

Em *P. maximum*, após 15 dias de experimento, a exposição ao poluente causou redução significativa de 46,8% e 53% no teor de clorofila *a* e *b*, respectivamente (Fig. 11 A, B). O teor de carotenóides sofreu um aumento ao final do experimento (Fig. 11 C),

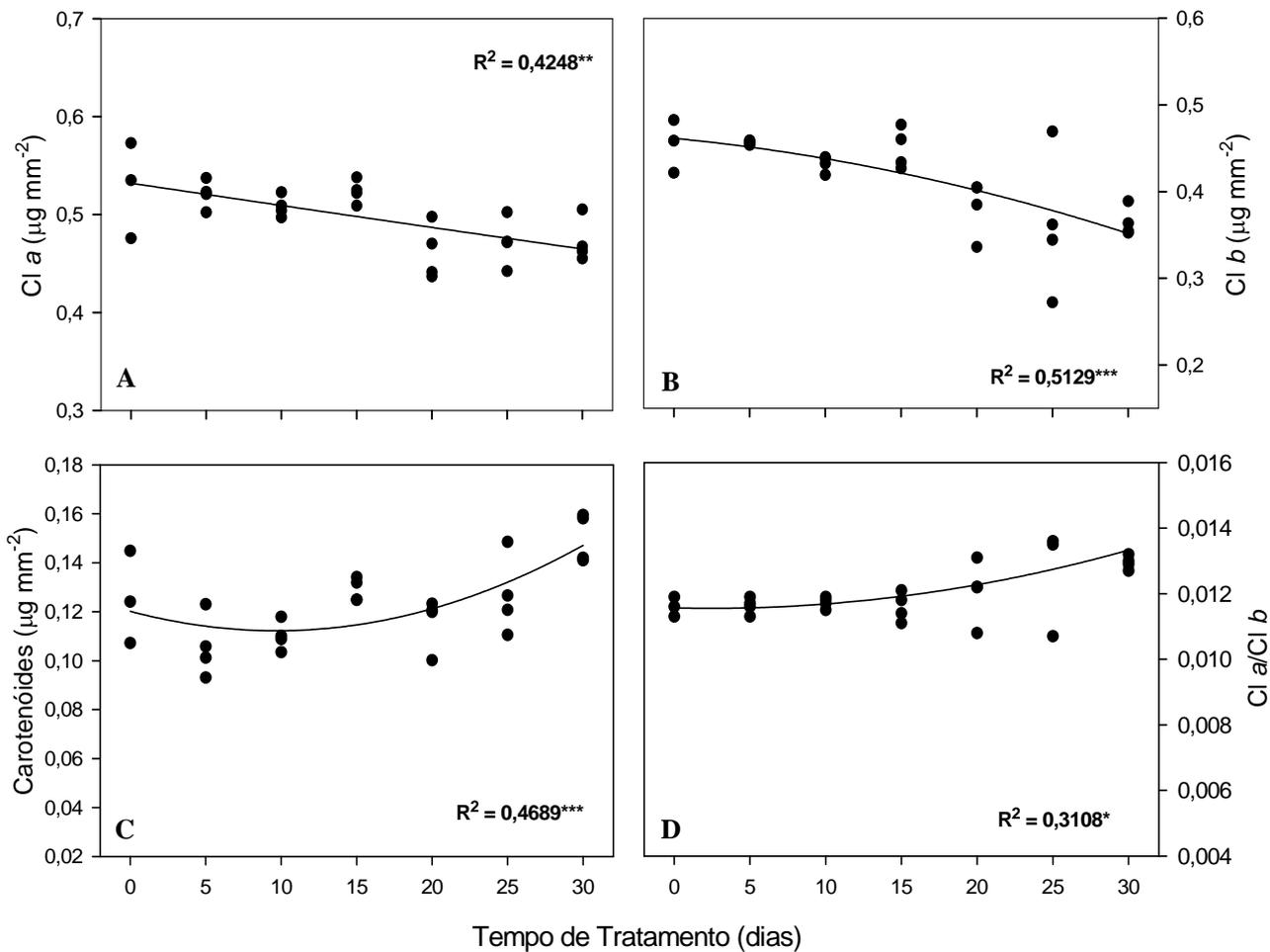


Figura 11: Variação nos teores de clorofila *a* e *b*, carotenóides, e razão *Cl a/Cl b* em *Panicum maximum*. Os dados foram submetidos à análise de regressão apresentando modelo quadrático (* : $p < 0,05$; ** : $p < 0,001$; *** : $p < 0,0001$).

Em resposta ao flúor, em *E. erythropappus* ao final de 30 dias de exposições, houve redução significativa de 23% e 32% nos teores de clorofila *a* e *b*, respectivamente (Fig. 12 A, B). O teor de carotenóides diminuiu em resposta ao poluente e houve tendência no aumento da razão *Cl a/Cl b* (Fig. 12 C, D).

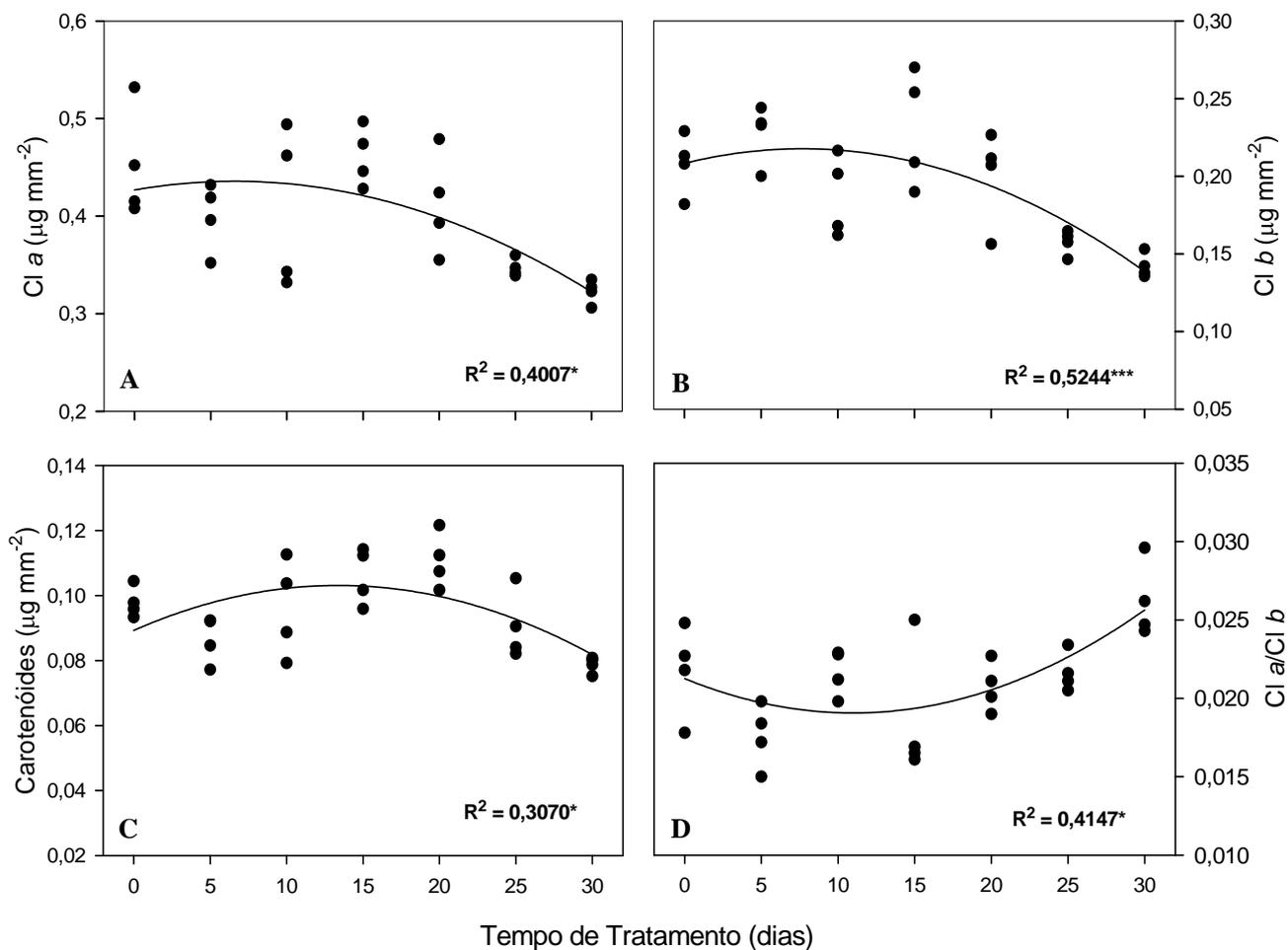


Figura 12: Variação nos teores de clorofila *a* e *b*, carotenóides, e razão *Cl a/Cl b* em *Eremanthus erythropappus*. Os dados foram submetidos à análise de regressão apresentando modelo quadrático (* : $p < 0,05$; ** : $p < 0,001$; *** : $p < 0,0001$).

Nas plantas de *S. terebinthifolius* expostas ao flúor, observou-se o decréscimo significativo de 36% e 40% nos teores de clorofila *a* e *b*, respectivamente, ao final do tratamento (Fig. 13 A, B). Nessa espécie, não foram observadas alterações significativas no teor de carotenóides e na razão *Cl a/ Cl b* em resposta ao tratamento contendo flúor (Fig. 13 C, D).

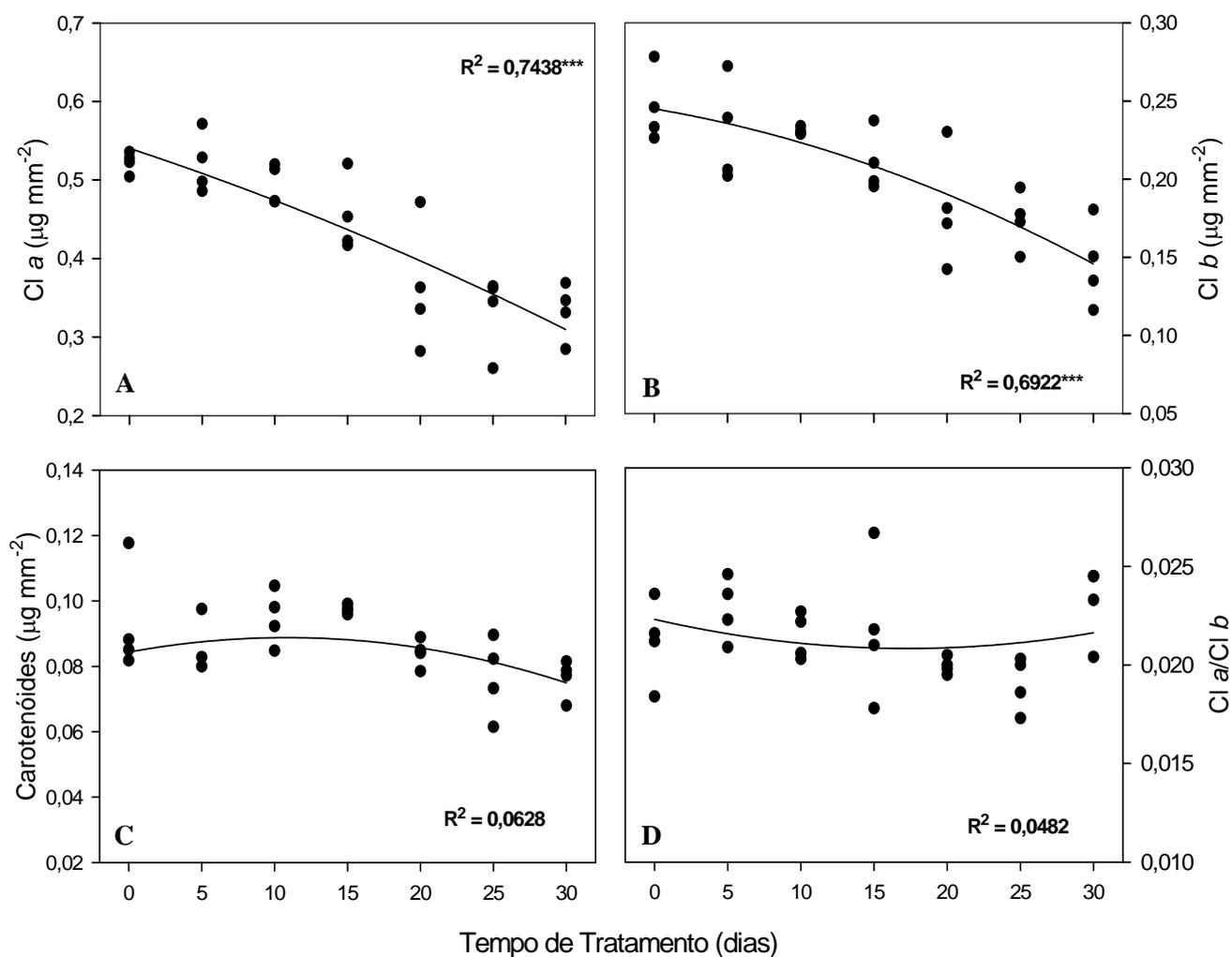


Figura 13: Variação nos teores de clorofila *a* e *b*, carotenóides, e razão *Cl a/Cl b* em *Schinus terebinthifolius*. Os dados foram submetidos à análise de regressão apresentando modelo quadrático (* : $p < 0,05$; ** : $p < 0,001$; *** : $p < 0,0001$).

Em *T. granulosa*, houve redução significativa de 10,5% e 20% nos teores de clorofila *a* e *b*, respectivamente (Fig. 14 A, B), ao final do tratamento, em resposta à exposição ao flúor. Observou-se o aumento significativo no teor de carotenóides e na razão *Cl a/Cl b* nessa espécie, em resposta ao poluente (Fig. 14 C, D).

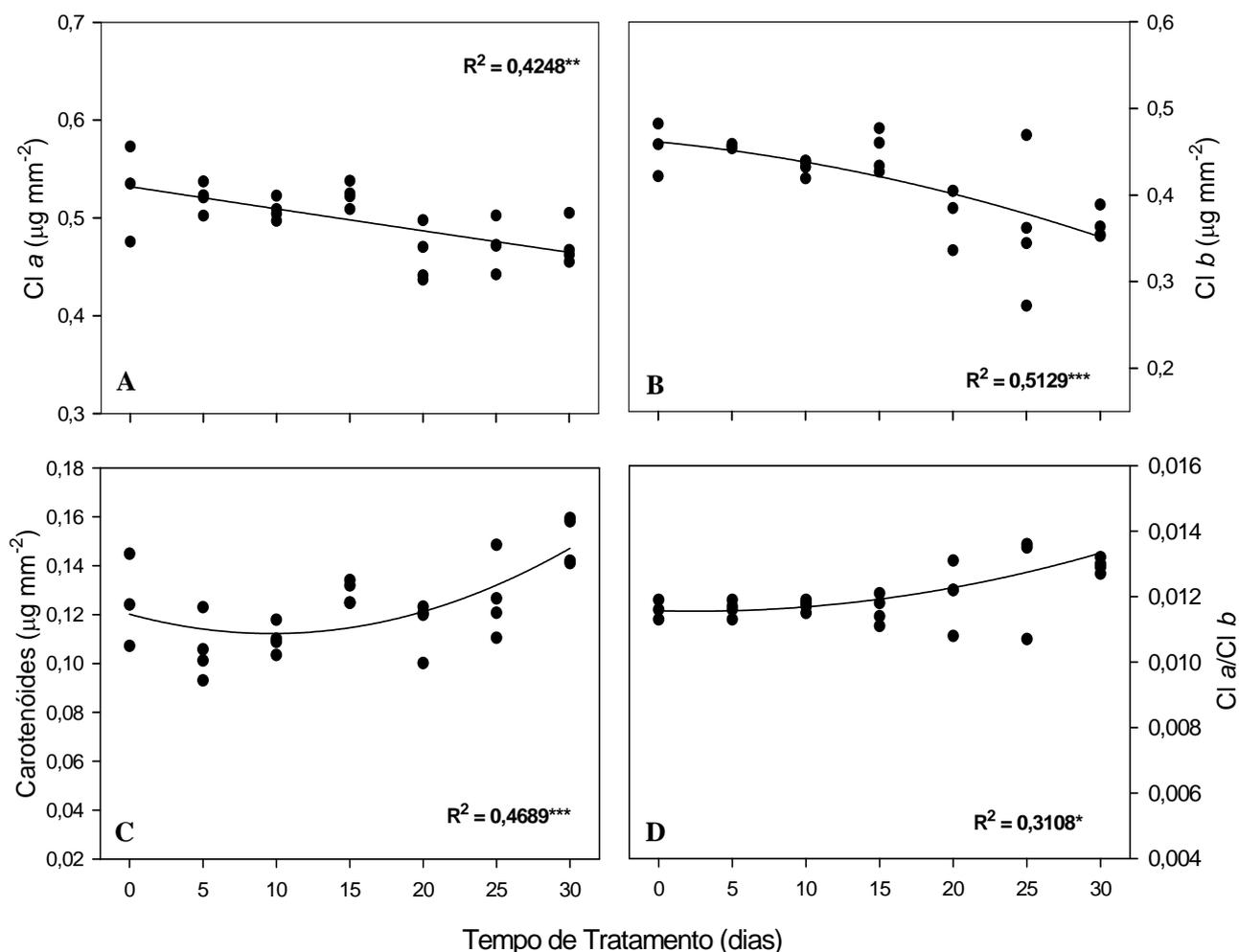


Figura 14: Variação nos teores de clorofila *a* e *b*, carotenóides, e razão *Cla/Clb* em *Tibouchina granulosa*. Os dados foram submetidos à análise de regressão apresentando modelo quadrático (* : $p < 0,05$; ** : $p < 0,001$; *** : $p < 0,0001$).

Fluorescência da clorofila *a*

Ao término do experimento observou-se em *P. maximum*, um acréscimo significativo de 15% na fluorescência mínima (F_0) e a redução de 7% e 20%, respectivamente, no quenching fotoquímico (qP) e na taxa de transporte de elétrons (ETR), em resposta às aplicações de fluoreto (Fig. 15 A, C, F). Houve tendência ao decréscimo da razão F_v/F_m , e no aumento do quenching não fotoquímico (qN e NPQ) das plantas tratadas com o poluente (Fig. 15 B, D, E).

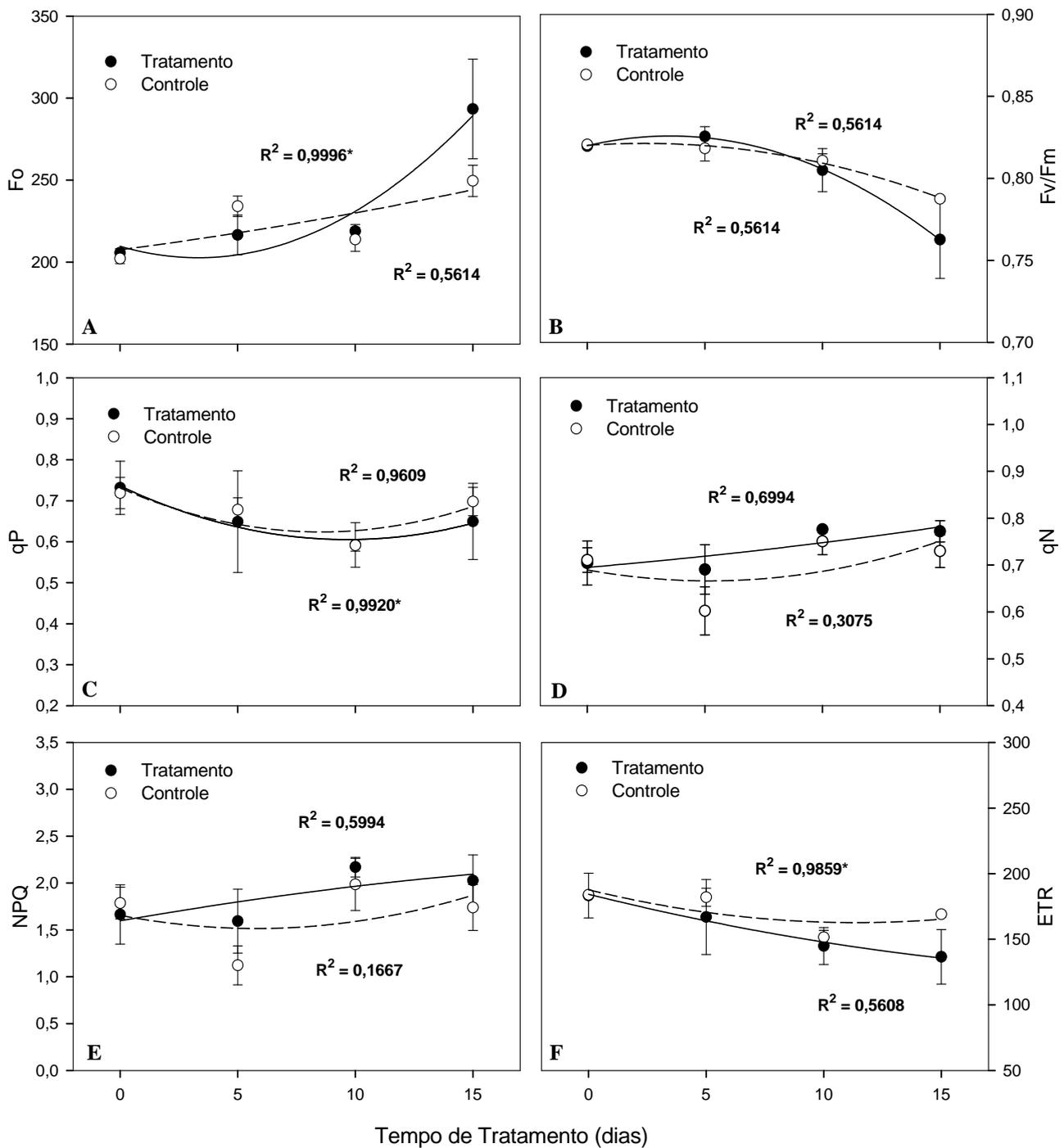


Figura 15: Variação dos parâmetros de fluorescência da clorofila *a* em indivíduos de *Panicum maximum*, nos tratamento controle e 15 mg L⁻¹ de NaF. A - fluorescência mínima (F_o), B- eficiência quântica máxima do PSII (F_v/F_m), C- taxa de transporte de elétrons (ETR), D- quenchinq fotoquímico (qP), E- quenchinq não fotoquímico (qN) e F- dissipação não fotoquímica (NPQ). Os dados foram submetidos à análise de regressão apresentando modelo quadrático (* : p<0,05; ** : p<0,001; *** : p<0,0001). As linhas tracejadas correspondem ao tratamento controle e as linhas contínuas correspondem ao tratamento contendo 15 mg L⁻¹ de NaF.

Ao término de trinta dias, as mudas de *E. erythropappus* expostas ao flúor apresentaram aumento de 18% na fluorescência mínima (Fo) e redução de 4% na eficiência quântica máxima do PSII (Fv/Fm), em relação ao tratamento controle (Fig. 16 A, B). Também em resposta ao poluente, observou-se tendência ao aumento dos quenchings não fotoquímicos (qN e NPQ) nessa espécie.

Após os trinta dias de tratamento com 15 mg L⁻¹ de flúor, indivíduos de *S. terebinthifolius* apresentaram variações significativas em todos os parâmetros de fluorescência da clorofila *a* avaliados, em relação ao tratamento controle (Fig. 17). Houve aumento de 12%, 8% e 19% nos parâmetros de Fo, qN e NPQ, respectivamente (Fig. 17 A, E, F) e os parâmetros de Fv/Fm, ETR e qP tiveram redução de 14%, 19% e 39%, respectivamente (Fig. 17 B, C, D) em resposta às aplicações do poluente.

Semelhante aos resultados encontrados para *S. terebinthifolius*, os indivíduos de *T. granulosa* também apresentaram variações significativas nos parâmetros de fluorescência da clorofila *a* mensurados. Ao final de trinta dias de experimento, foi observado a redução de 5%, 33% e 38% nos parâmetros de Fv/Fm, ETR e qP, respectivamente (Fig. 18 B, C, D). Houve ainda o aumento nos parâmetros de Fo, qN e NPQ, em 17%, 38% e 56%, respectivamente (Fig. 18 A, E, F), em resposta às aplicações do poluente.

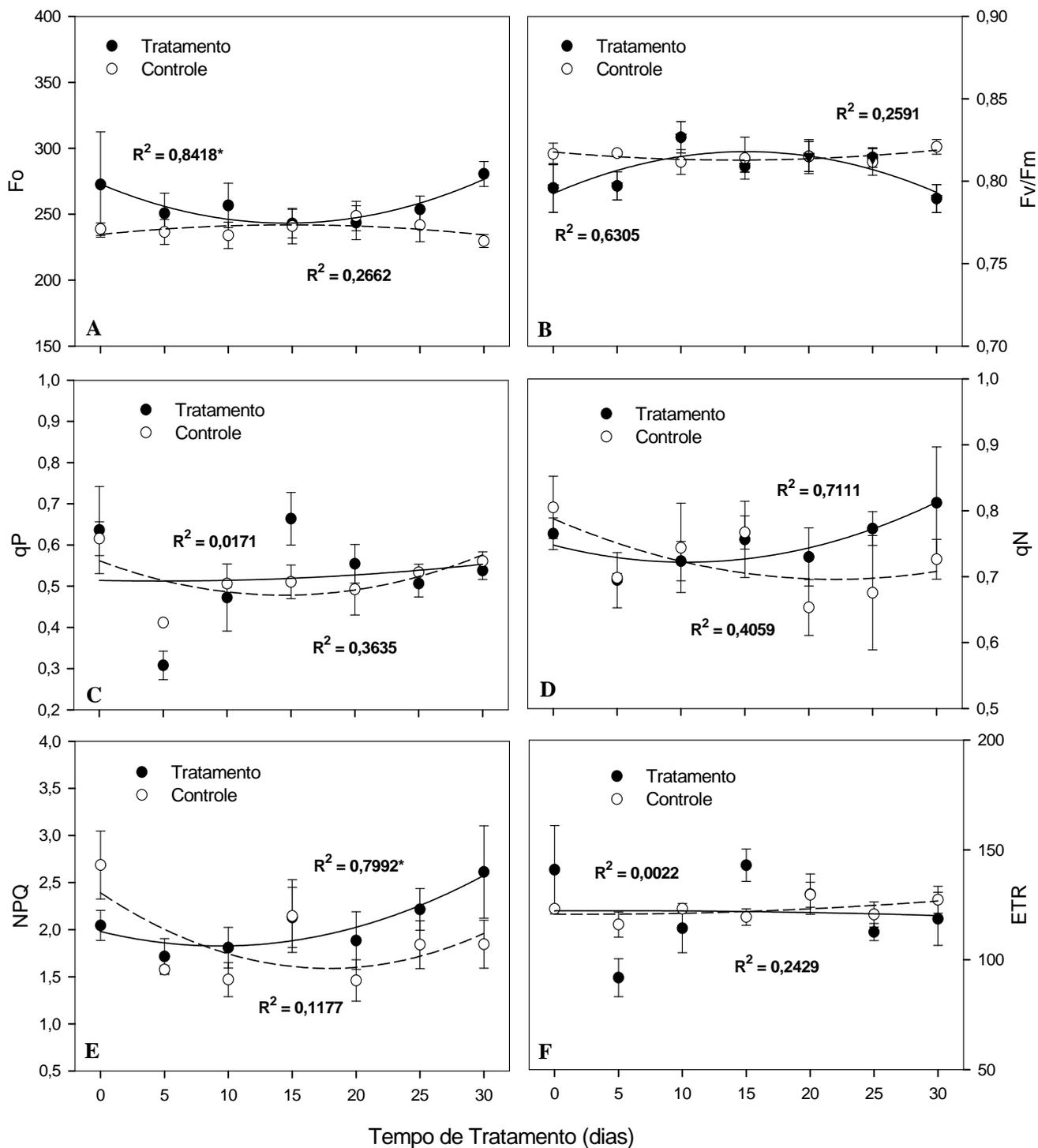


Figura 16: Variação dos parâmetros de fluorescência da clorofila *a* em indivíduos de *Eremanthus erythropappus*, nos tratamento controle e 15 mg L⁻¹ de NaF. A - fluorescência mínima (F_o), B- eficiência quântica máxima do PSII (F_v/F_m), C- taxa de transporte de elétrons (ETR), D- quenchinq fotoquímico (qP), E- quenchinq não fotoquímico (qN) e F- dissipação não fotoquímica (NPQ). Os dados foram submetidos à análise de regressão apresentando modelo quadrático (* : $p < 0,05$; ** : $p < 0,001$; *** : $p < 0,0001$). As linhas tracejadas correspondem ao tratamento controle e as linhas contínuas correspondem ao tratamento contendo 15 mg L⁻¹ de NaF.

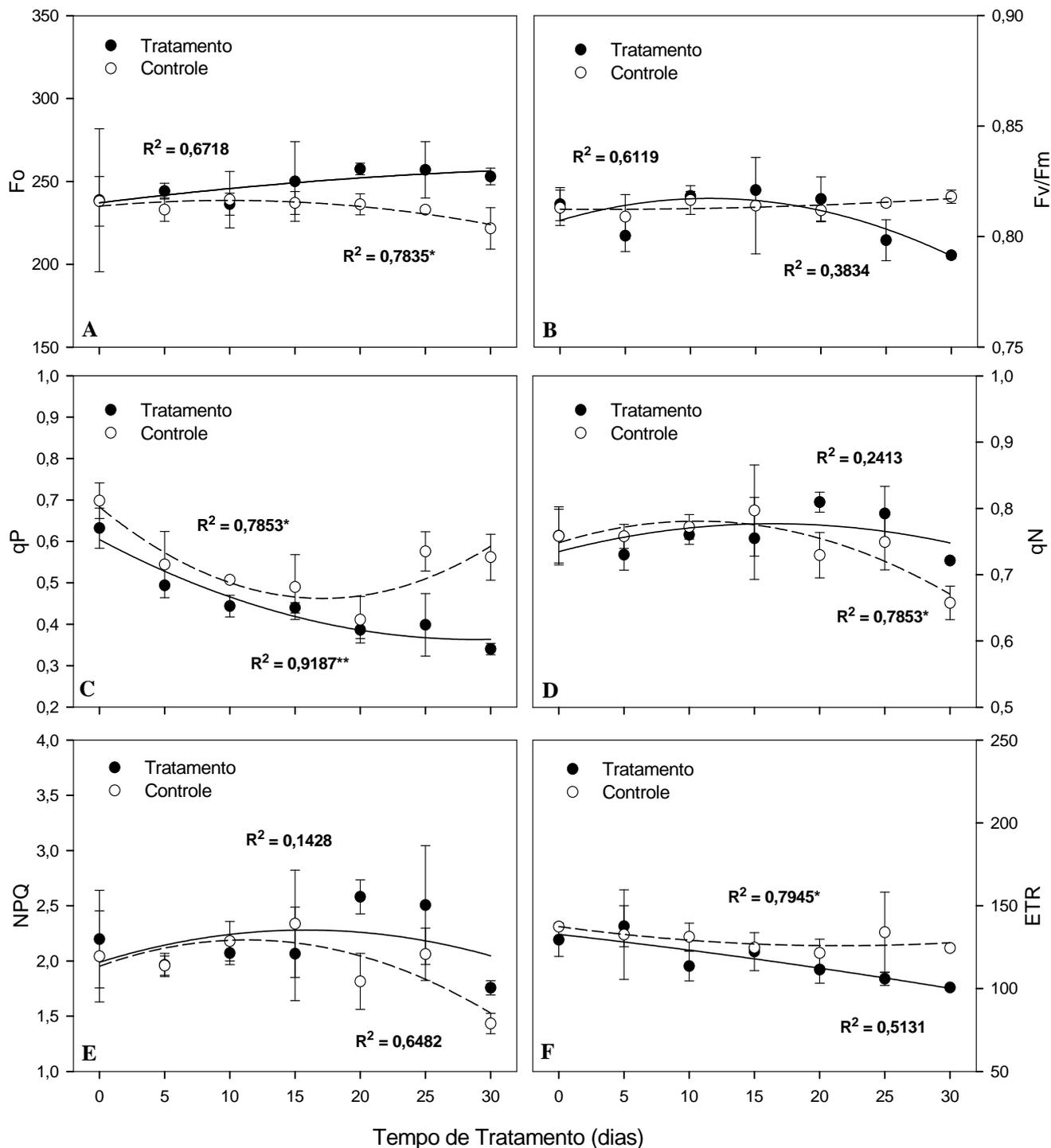


Figura 17: Variação dos parâmetros de fluorescência da clorofila *a* em indivíduos de *Schinus terebinthifolius*, nos tratamentos controle e 15 mg L⁻¹ de NaF. A - fluorescência mínima (Fo), B- eficiência quântica máxima do PSII (Fv/Fm), C- taxa de transporte de elétrons (ETR), D- quenching fotoquímico (qP), E- quenching não fotoquímico (qN) e F- dissipação não fotoquímica (NPQ). Os dados foram submetidos à análise de regressão apresentando modelo quadrático (* : p<0,05; ** : p<0,001; *** : p<0,0001). As linhas tracejadas correspondem ao tratamento controle e as linhas contínuas correspondem ao tratamento contendo 15 mg L⁻¹ de NaF.

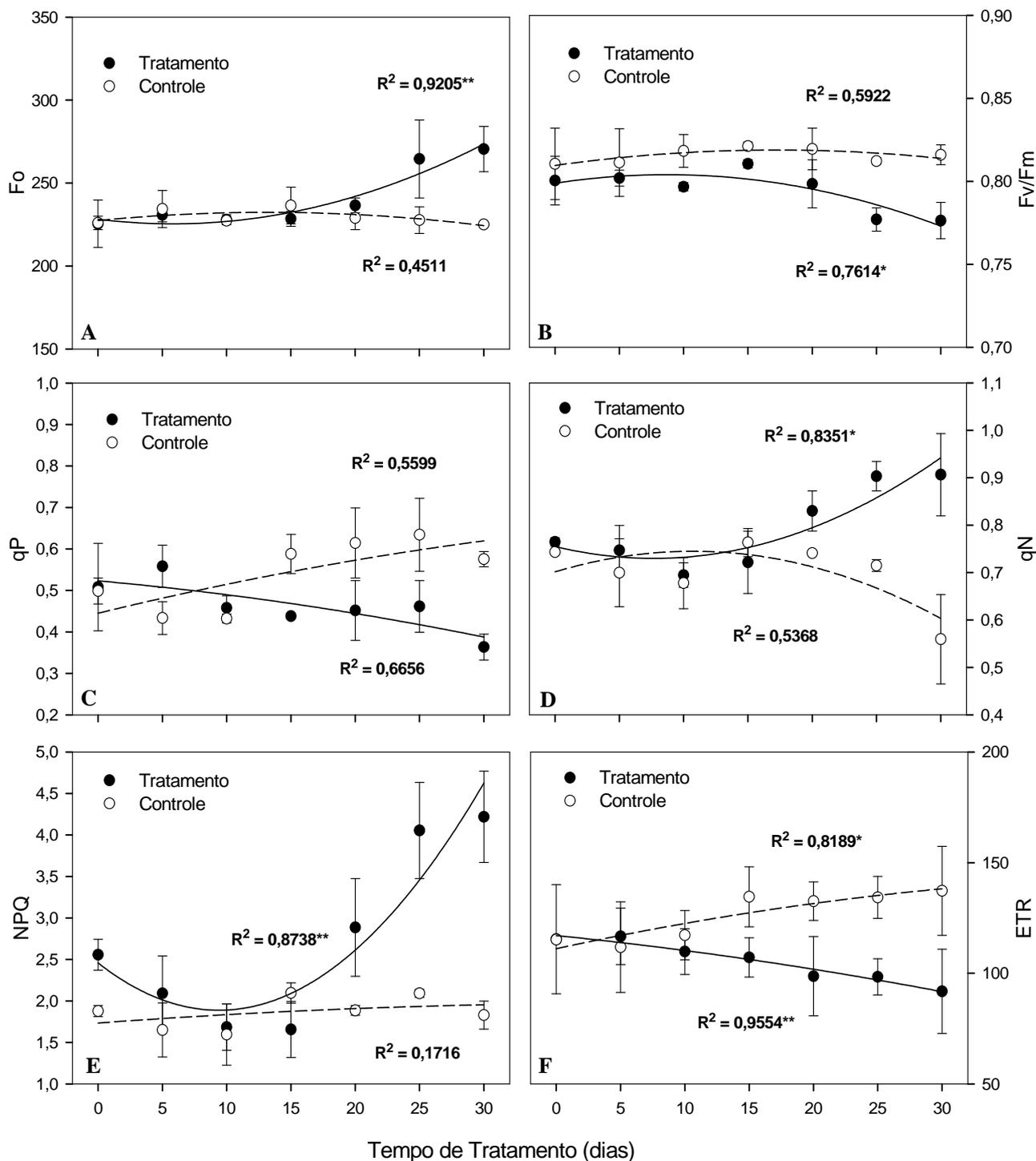


Figura 18: Variação dos parâmetros de fluorescência da clorofila *a* em indivíduos de *Tibouchina granulosa*, nos tratamentos controle e 15 mg L^{-1} de NaF. A - fluorescência mínima (F_o), B- eficiência quântica máxima do PSII (F_v/F_m), C- taxa de transporte de elétrons (ETR), D- quenching fotoquímico (q_P), E- quenching não fotoquímico (q_N) e F- dissipação não fotoquímica (NPQ). Os dados foram submetidos à análise de regressão apresentando modelo quadrático (* : $p < 0,05$; ** : $p < 0,001$; *** : $p < 0,0001$). As linhas tracejadas correspondem ao tratamento controle e as linhas contínuas correspondem ao tratamento contendo 15 mg L^{-1} de NaF.

Fluorescência de imagem da clorofila *a*

A fluorescência mínima (F_o) sofreu aumento significativo nos indivíduos de *P. maximum*, *E. erythropappus* e *S. terebinthifolius* expostos a 15 mg L^{-1} de flúor em relação ao tratamento controle (Fig. 19 A, 20 A e 21 A). Em mudas de *P. maximum* tratadas com flúor, a área foliar com valores de F_o entre 0,100 e 0,180 corresponde a 98,48% em comparação a área do tratamento controle, que corresponde a 8% (Fig 19 A), evidenciando um aumento na fluorescência mínima em resposta às aplicações do poluente. Houve também aumento no F_o nas mudas de *E. erythropappus* tratadas com 15 mg L^{-1} de flúor. Nessa espécie, a área foliar com valores de F_o maiores que 0,180 correspondem a 87,25% no tratamento contendo flúor, em comparação com a área do tratamento controle, equivalente a 1,61% (Fig. 20 A). Da mesma forma, nos indivíduos de *S. terebinthifolius* também foi observado maior porcentagem de área foliar com valores de F_o superiores a 0,180, no tratamento com 15 mg L^{-1} de flúor (25,34%), em comparação ao tratamento controle, indicando assim o aumento de F_o em resposta às aplicações do poluente (Fig. 21 A). Ao contrário do que foi observado nas demais espécies, nas mudas de *T. granulosa* expostas ao flúor, houve a redução nos parâmetros de F_o em resposta à exposição ao flúor. Houve aumento na porcentagem de área foliar (Fig. 22 A) com valores de F_o inferiores a 0,100 (23,26%), em comparação a área foliar do tratamento controle inserida na mesma categoria (12,56%).

Indivíduos de *P. maximum* tratados com 15 mg L^{-1} de flúor, apresentaram 5,4% de sua área foliar com valores de F_v/F_m inferiores a 0,650, enquanto o controle foi 0% (Fig. 19 B), evidenciando áreas foliares comprometidas devido ao tratamento com o poluente. A porcentagem de área foliar com valores de F_v/F_m maiores que 0,790 correspondem a 4,6% em mudas de *E. erythropappus* expostas ao flúor, em comparação com o controle, que apresentou 36,7% (Fig. 20 B). Em mudas de *S. terebinthifolius* tratadas com 15 mg L^{-1} de flúor, também foi observado menor porcentagem de área foliar com valores de F_v/F_m superiores a 0,790 (23,4%), em comparação ao tratamento controle (Fig. 21 B). De modo semelhante ao observado nas espécies anteriores, também se observou nas mudas de *T. granulosa* submetidas ao tratamento com o poluente, a diminuição na razão F_v/F_m . No tratamento controle, a porcentagem da área foliar que apresentou valores maiores que 0,790, corresponde a 72,1%, valor superior ao observado nas plantas do tratamento com 15 mg L^{-1} de flúor, 32,4% (Fig. 22 B).

Através da linha reta traçada ligando uma margem a outra no limbo foliar, foi possível visualizar as áreas marginais como as áreas mais afetadas pela ação do poluente nos indivíduos de *P. maximum*, *S. terebinthifolius* e *T. granulosa* expostos a 15 mg L^{-1} de flúor, durante trinta dias. Nessas regiões afetadas, além da presença de manchas de colorações claras que evidenciam as injúrias foliares, também houve reduções nos valores de Fv/Fm e o aumento, ou redução nos valores de Fo (Fig. 23 e 24).

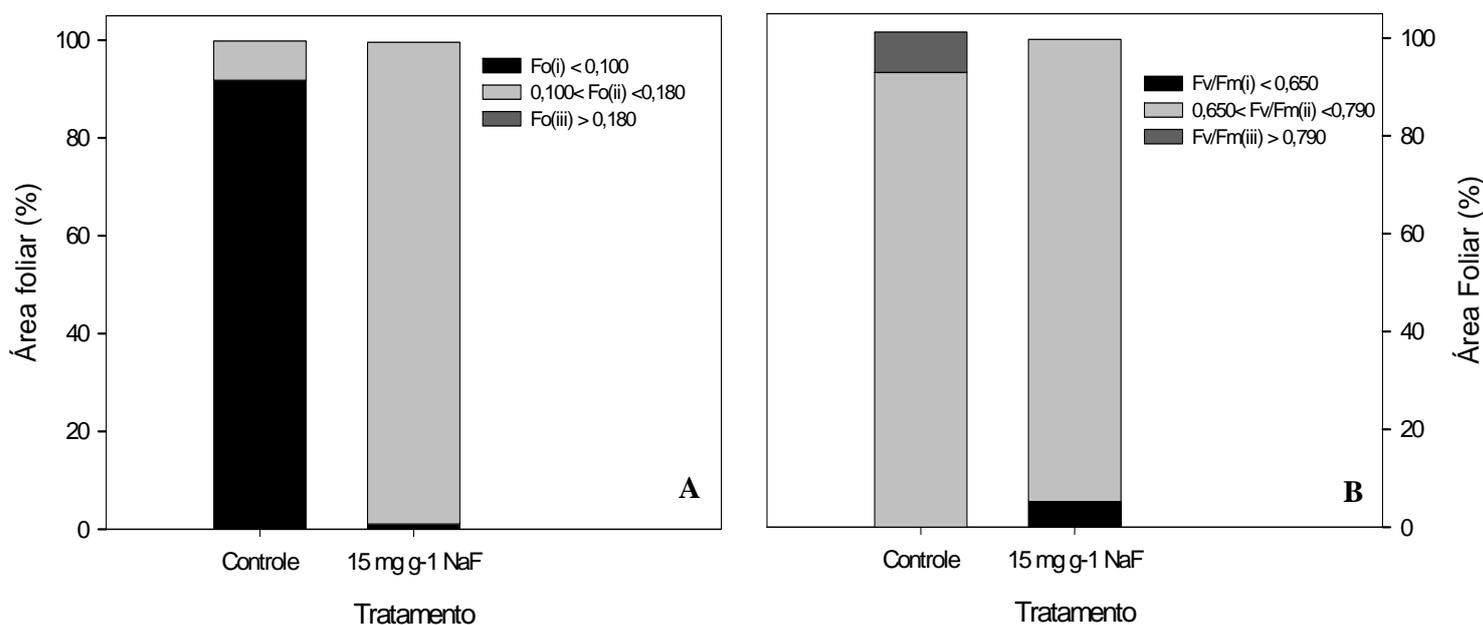


Figura 19: Porcentagem de área foliar dividida nas folhas de *Panicum maximum*, segundo as três categorias de valores adotados para as análises da fluorescência mínima (Fo) e a eficiência quântica máxima do PSII (Fv/Fm). As três categorias de valores adotados para análise de Fo: Fo(i) < 0,100, 0,100 < Fo(ii) < 0,180, Fo(iii) > 0,180. As três categorias de valores adotados para análise de Fv/Fm: Fv/Fm(i) < 0,650, 0,650 < Fv/Fm(ii) < 0,790, Fv/Fm (iii) > 0,790.

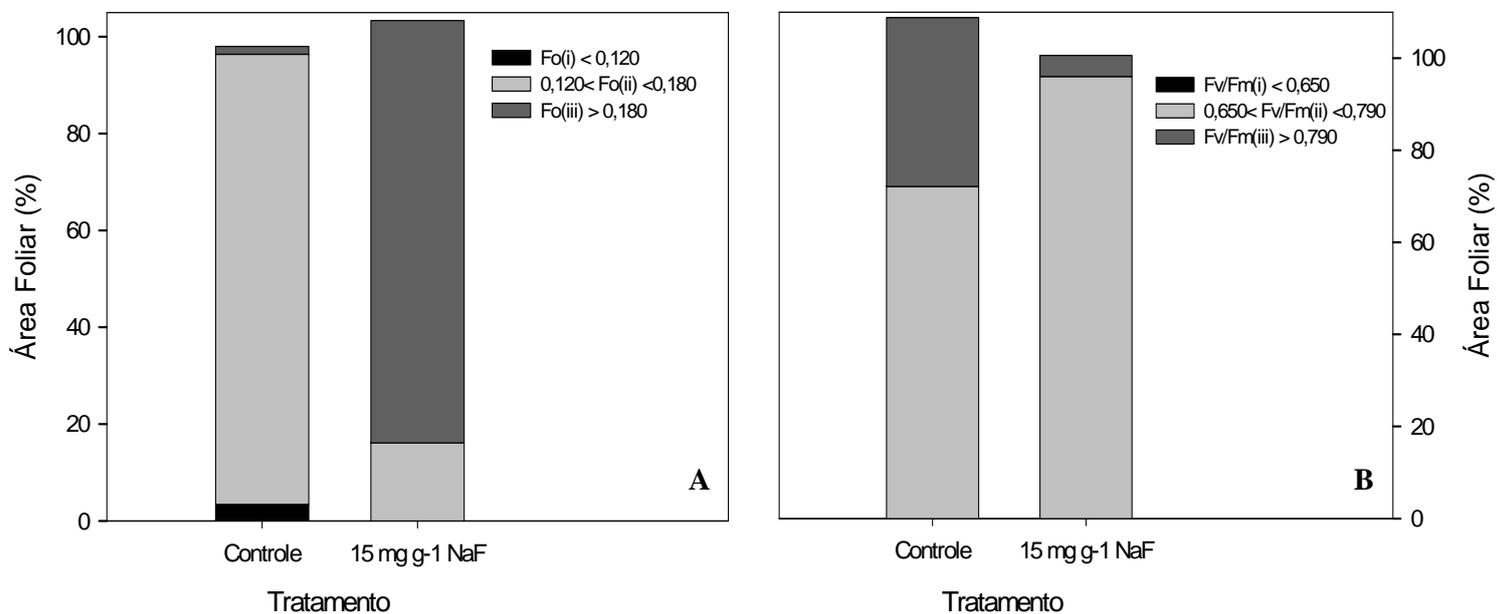


Figura 20: Porcentagem de área foliar dividida nas folhas de *Eremanthus erythropappus*, segundo as três categorias de valores adotados para as análises da fluorescência mínima (Fo) e a eficiência quântica máxima do PSII (Fv/Fm). As três categorias de valores adotados para análise de Fo: Fo(i) < 0,120, 0,120 < Fo(ii) < 0,180, Fo(iii) > 0,180. As três categorias de valores adotados para análise de Fv/Fm: Fv/Fm(i) < 0,650, 0,650 < Fv/Fm(ii) < 0,790, Fv/Fm (iii) > 0,790.

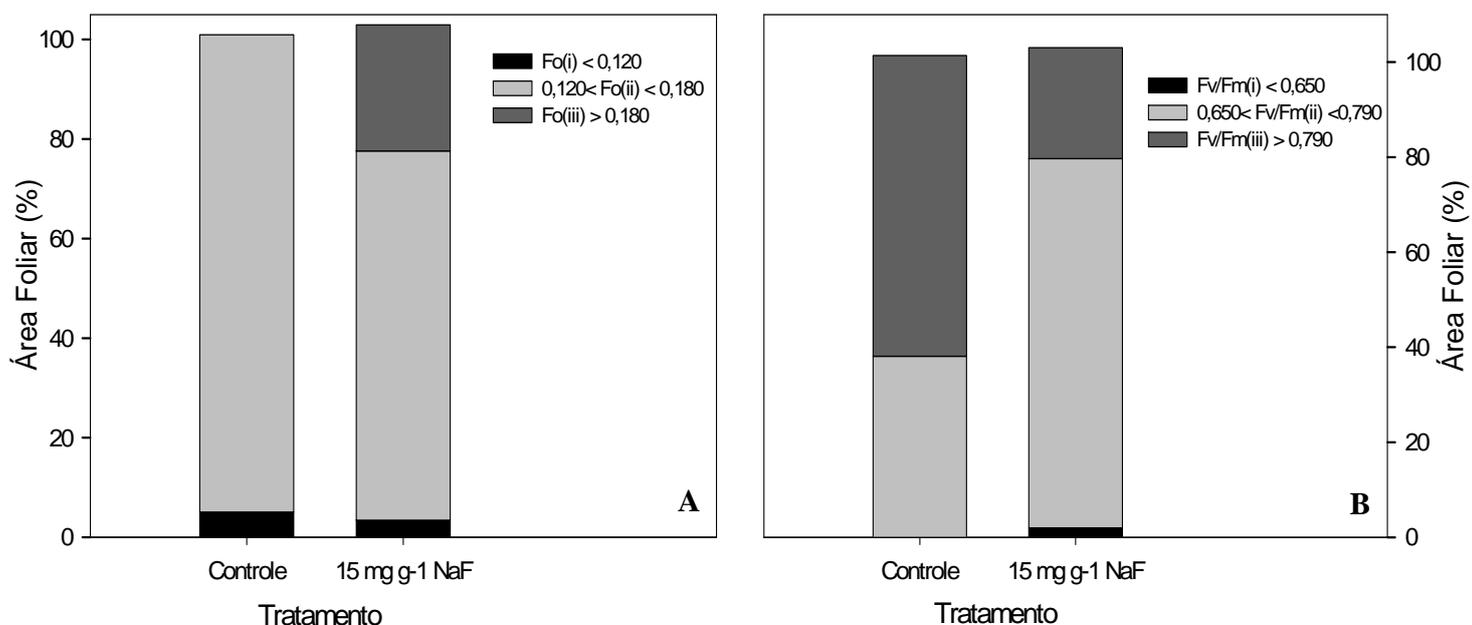


Figura 21: Porcentagem de área foliar dividida nas folhas de *Schinus terebinthifolius*, segundo as três categorias de valores adotados para as análises da fluorescência mínima (Fo) e a eficiência quântica máxima do PSII (Fv/Fm). As três categorias de valores adotados para análise de Fo: Fo(i) < 0,120, 0,120 < Fo(ii) < 0,180, Fo(iii) > 0,180. As três categorias de valores adotados para análise de Fv/Fm: Fv/Fm(i) < 0,650, 0,650 < Fv/Fm(ii) < 0,790, Fv/Fm (iii) > 0,790.

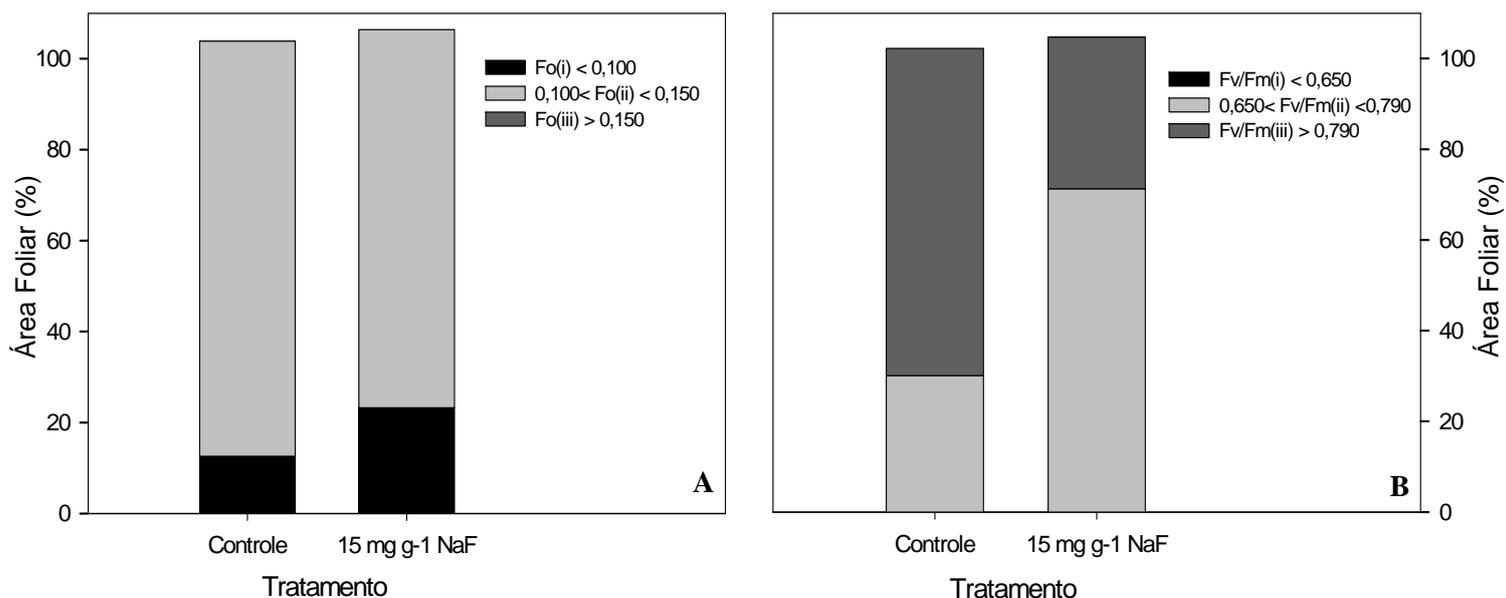


Figura 22: Porcentagem de área foliar dividida nas folhas de *Schinus terebinthifolius*, segundo as três categorias de valores adotados para as análises da fluorescência mínima (Fo) e a eficiência quântica máxima do PSII (Fv/Fm). As três categorias de valores adotados para análise de Fo: Fo(i) < 0,120, 0,120 < Fo(ii) < 0,180, Fo(iii) > 0,180. As três categorias de valores adotados para análise de Fv/Fm: Fv/Fm(i) < 0,650, 0,650 < Fv/Fm(ii) < 0,790, Fv/Fm (iii) > 0,790.

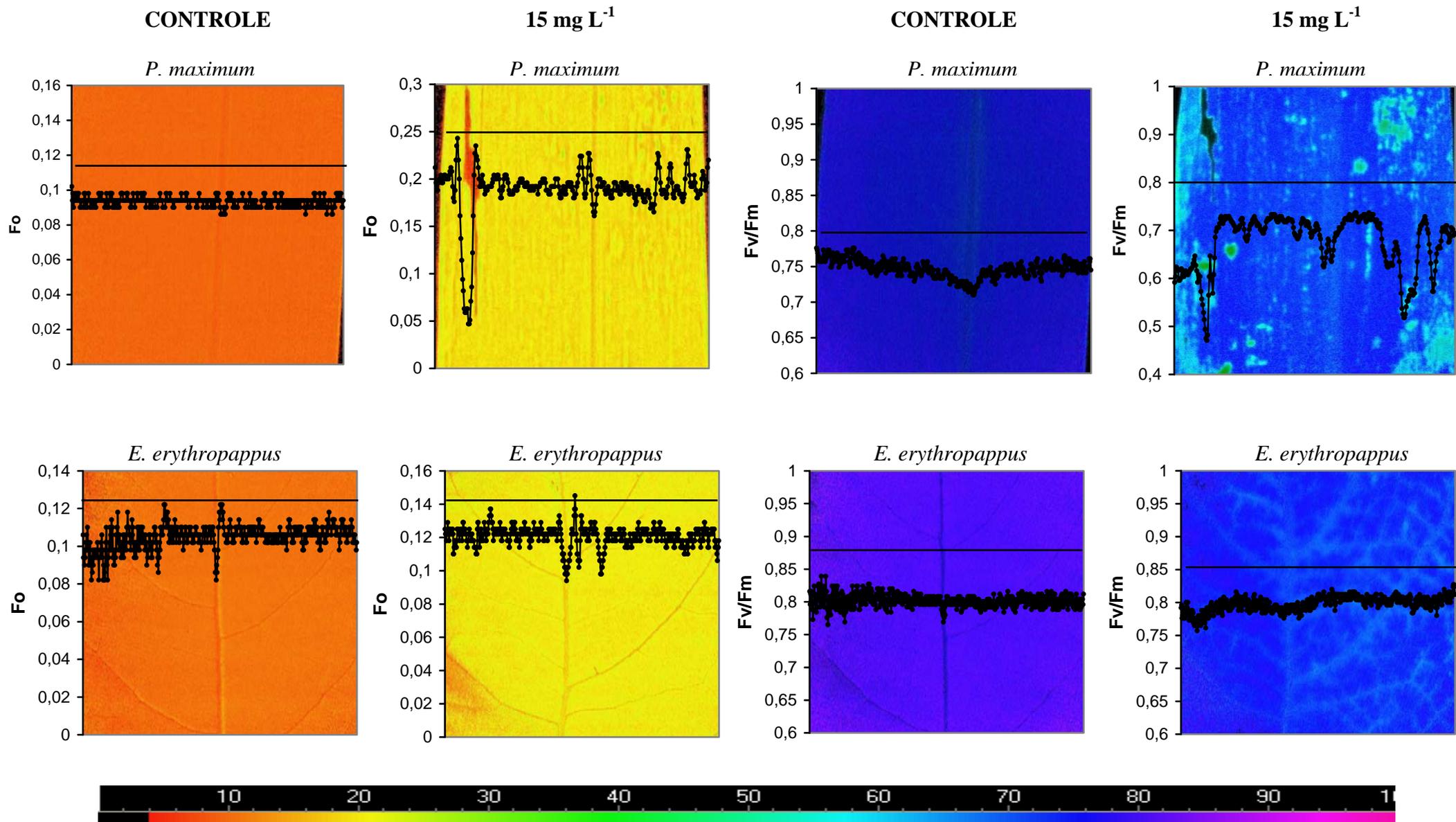


Figura 23: Imagem da fluorescência da clorofila *a* de Fo e Fv/Fm em indivíduos de *Panicum maximum* e *Eremanthus erythropappus* dos tratamentos controle e 15 mg L⁻¹ de flúor, medidos após o término do experimento. Os gráficos representam a variação dos valores de Fo e Fv/Fm ao longo da linha reta traçada, atravessando o limbo foliar.

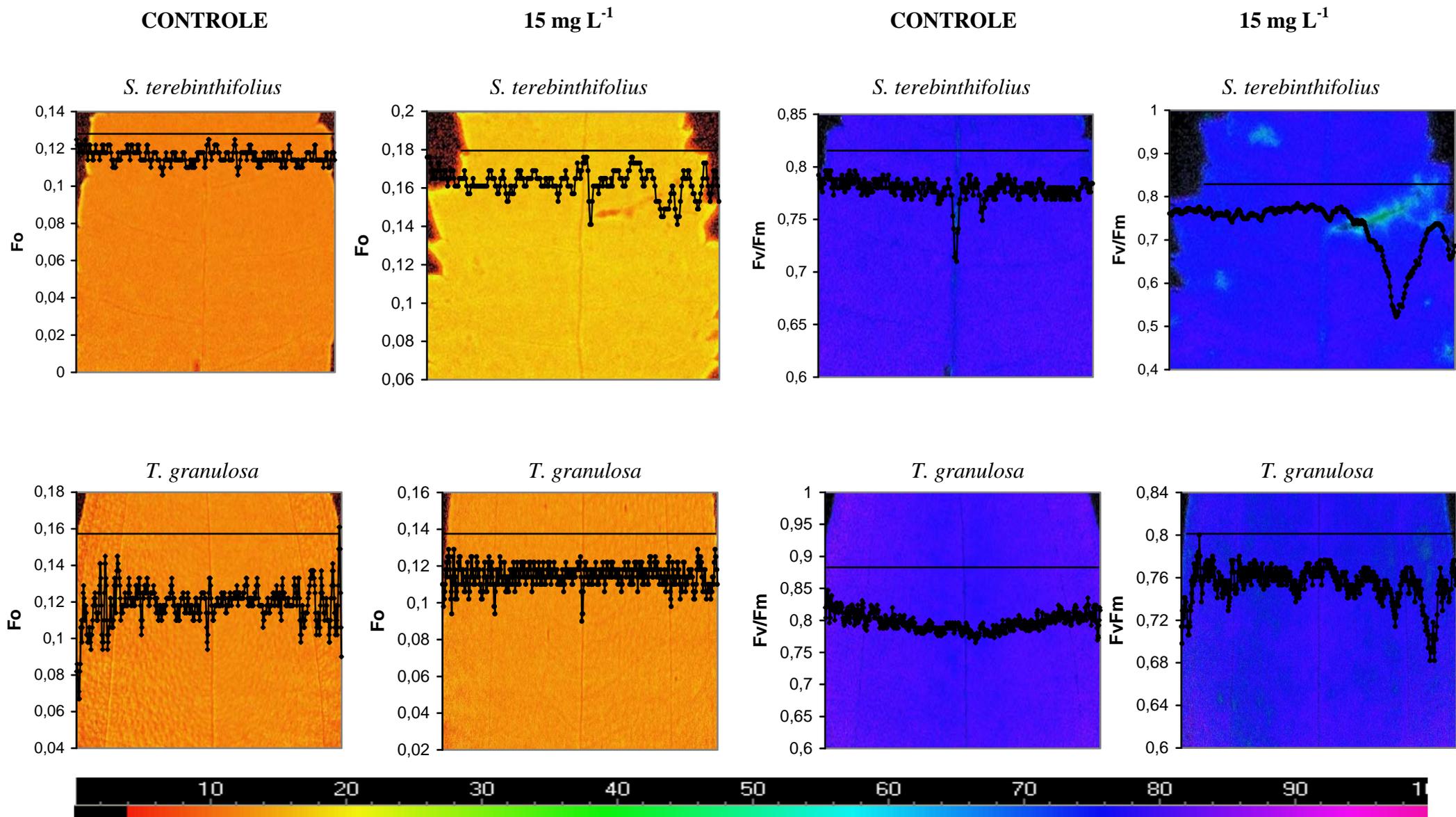


Figura 24: Imagem da fluorescência da clorofila *a* de Fo e Fv/Fm em indivíduos de *Schinus terebinthifolius* e *Tibouchina granulosa* dos tratamentos controle e 15 mg L⁻¹ de flúor, medidos após o término do experimento. Os gráficos representam a variação dos valores de Fo e Fv/Fm ao longo da linha reta traçada, atravessando o limbo foliar.

Concentração Letal (CL 50)

Em *P. maximum* todos os parâmetros foram reduzidos em 50% pela ação do poluente, exceto a taxa de transporte de elétrons (ETR) e Ci. O conteúdo de clorofila *b* foi o parâmetro que apresentou maior sensibilidade à ação do poluente, em concentrações próximas de $6,36 \mu\text{g g}^{-1}\text{MS}$, foi reduzido a $0,1514 \mu\text{g mm}^{-2}$ (Fig 25 F). Em seguida, a condutância estomática, a taxa fotossintética e o teor de clorofila *a* foram reduzidos em 50% quando as folhas atingiram concentrações de 8,14, 8,54 e $13 \mu\text{g g}^{-1}\text{MS}$, respectivamente (Fig. 25 A, B, E). A concentração interna de carbono (Ci) sofreu um acréscimo de 50%, quando o flúor atingiu concentrações nas folhas próximas a $15,29 \mu\text{g g}^{-1}\text{MS}$ (Fig. 25 C).

Os teores de flúor encontrados nas folhas de *E. erythropappus* e *S. terebinthifolius* expostas a 15mg L^{-1} do poluente, não foram suficientes para causar a redução de 50% os parâmetros avaliados (Fig. 26 e 27).

Em *T. granulosa*, concentrações próximas a $8 \mu\text{g g}^{-1} \text{MS}$ encontradas nas folhas expostas ao poluente, reduziram 50% da taxa fotossintética e da condutância estomática (Fig. 28 A e B). Os demais parâmetros não sofreram reduções de 50% em nenhuma concentração de flúor acumulado nas folhas (Fig. 28).

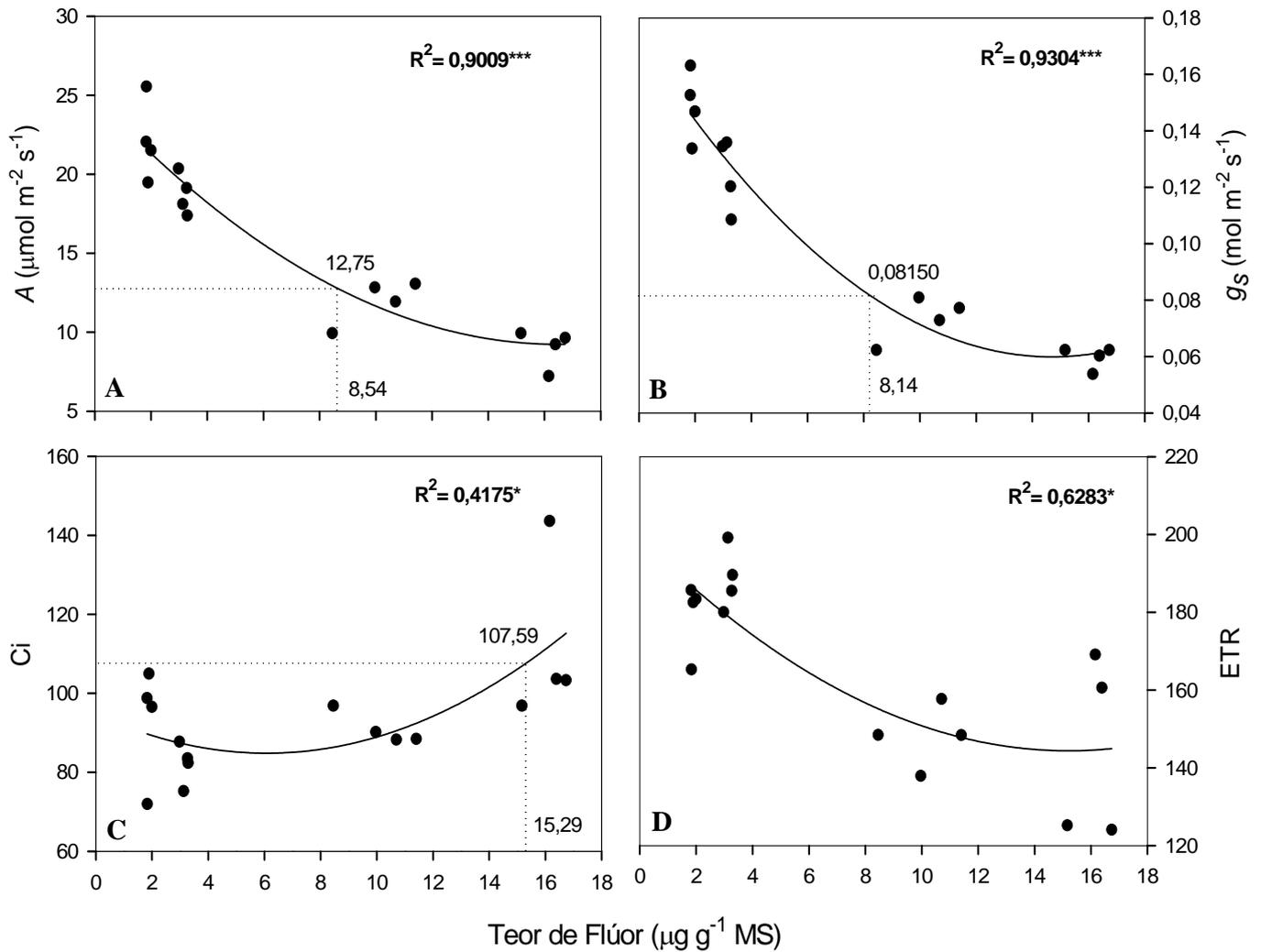


Figura 25: Alterações nos parâmetros fotossintéticos em função da concentração de flúor em *Panicum maximum*. A- taxa fotossintética (A), B- condutância estomática (g_s), C- concentração interna de carbono (C_i), D- taxa de transporte de elétrons (ETR). As linhas tracejadas indicam o teor de flúor nas folhas capaz de causar redução de 50% nos parâmetros avaliados. Os dados foram submetidos à análise de regressão apresentando modelo quadrático(* : p<0,05; ** : p<0,001; *** : p<0,0001).

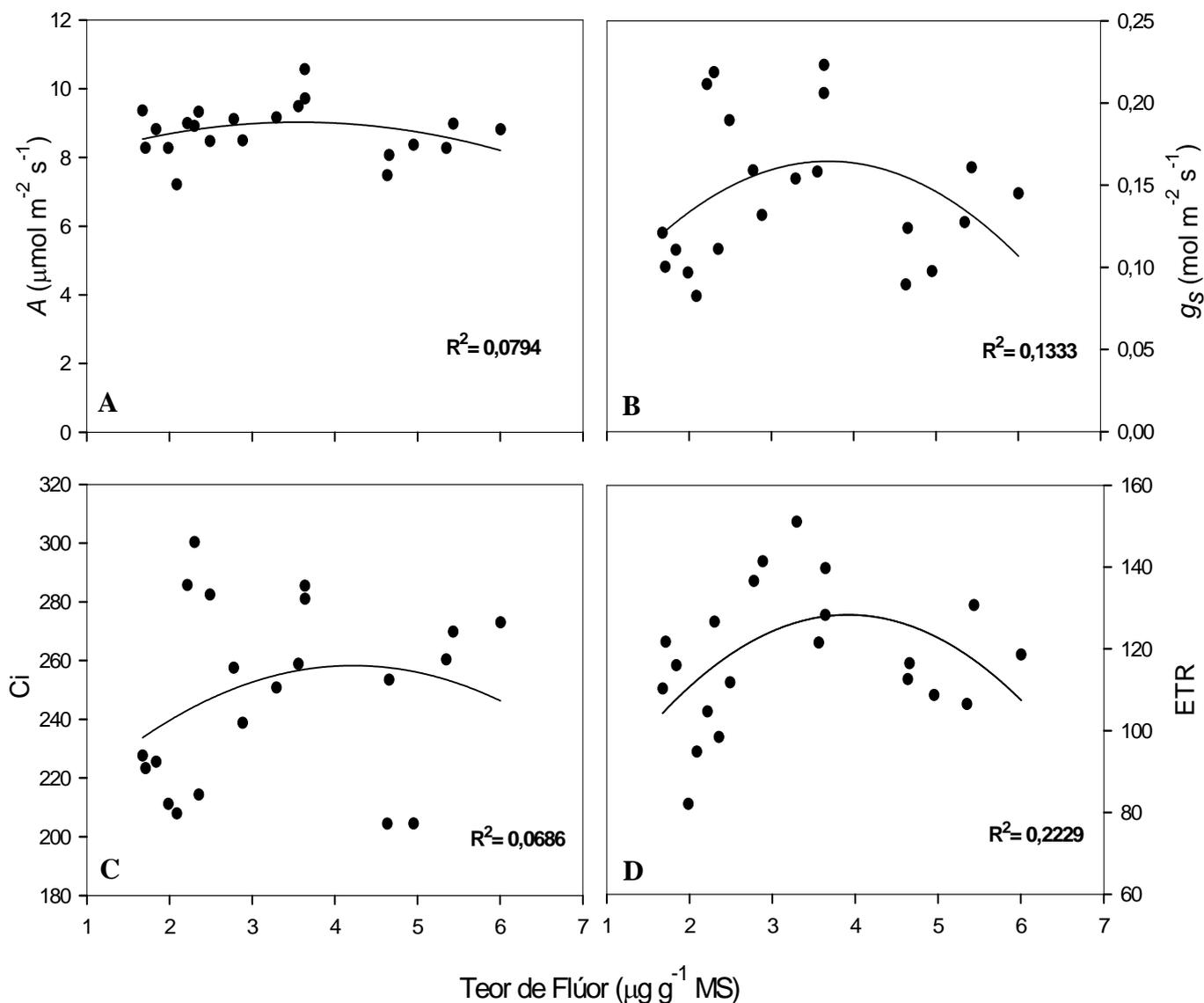


Figura 26: Alterações nos parâmetros fotossintéticos em função da concentração de flúor em *Eremanthus erythropappus*. A- taxa fotossintética (A), B- condutância estomática (g_s), C- concentração interna de carbono (C_i), D- taxa de transporte de elétrons (ETR). As linhas tracejadas indicam o teor de flúor nas folhas capaz de causar redução de 50% nos parâmetros avaliados. Os dados foram submetidos à análise de regressão apresentando modelo quadrático (* : $p < 0,05$; ** : $p < 0,001$; *** : $p < 0,0001$).

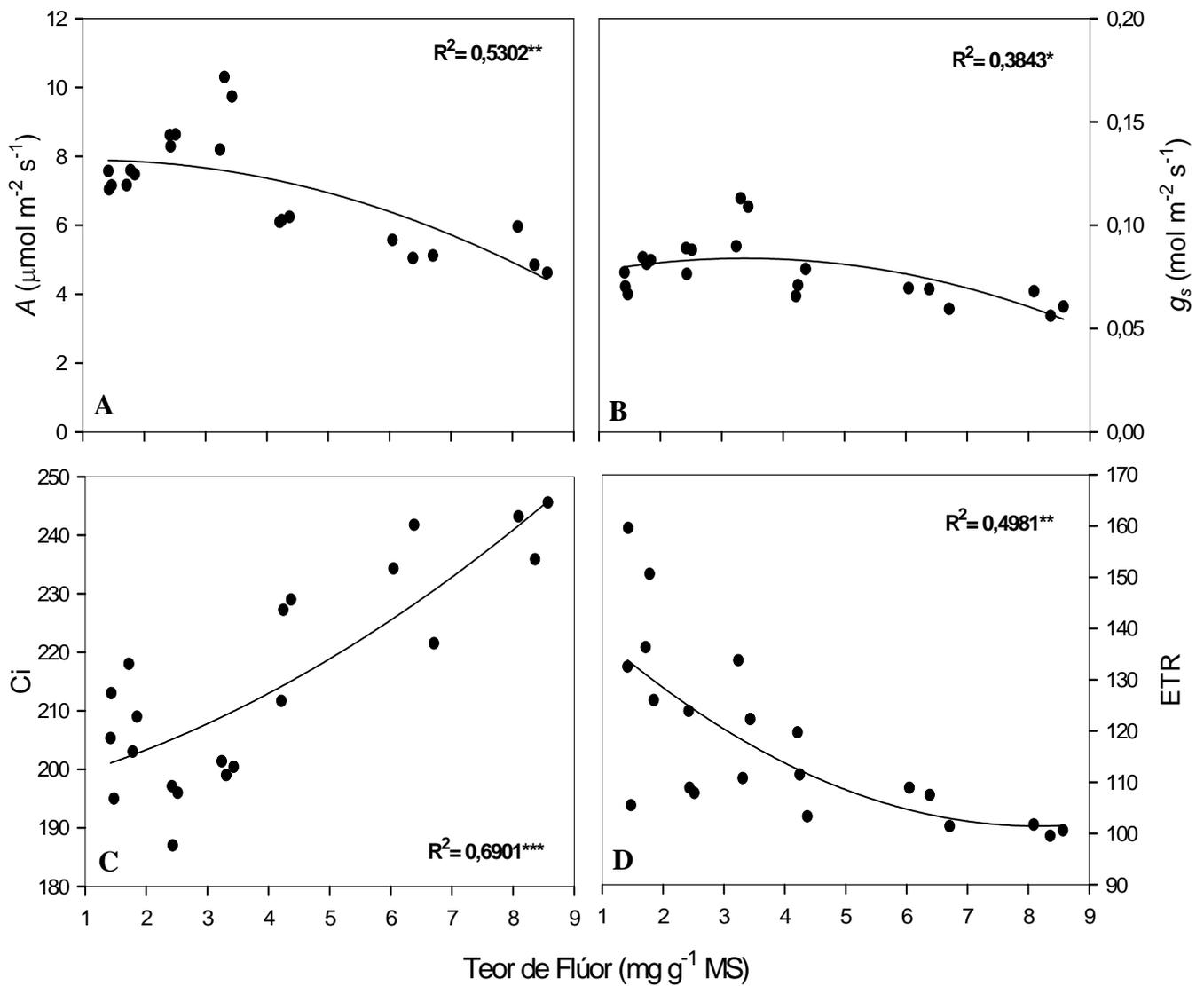


Figura 27: Parâmetros fotossintéticos em função da concentração de flúor em *S. terebinthifolius*. A- taxa fotossintética (A), B- condutância estomática (g_s), C- concentração interna de carbono (C_i), D- taxa de transporte de elétrons (ETR). As linhas tracejadas indicam o teor de flúor nas folhas capaz de causar redução de 50% nos parâmetros avaliados. Os dados foram submetidos à análise de regressão apresentando modelo quadrático (* : $p < 0,05$; ** : $p < 0,001$; *** : $p < 0,0001$).

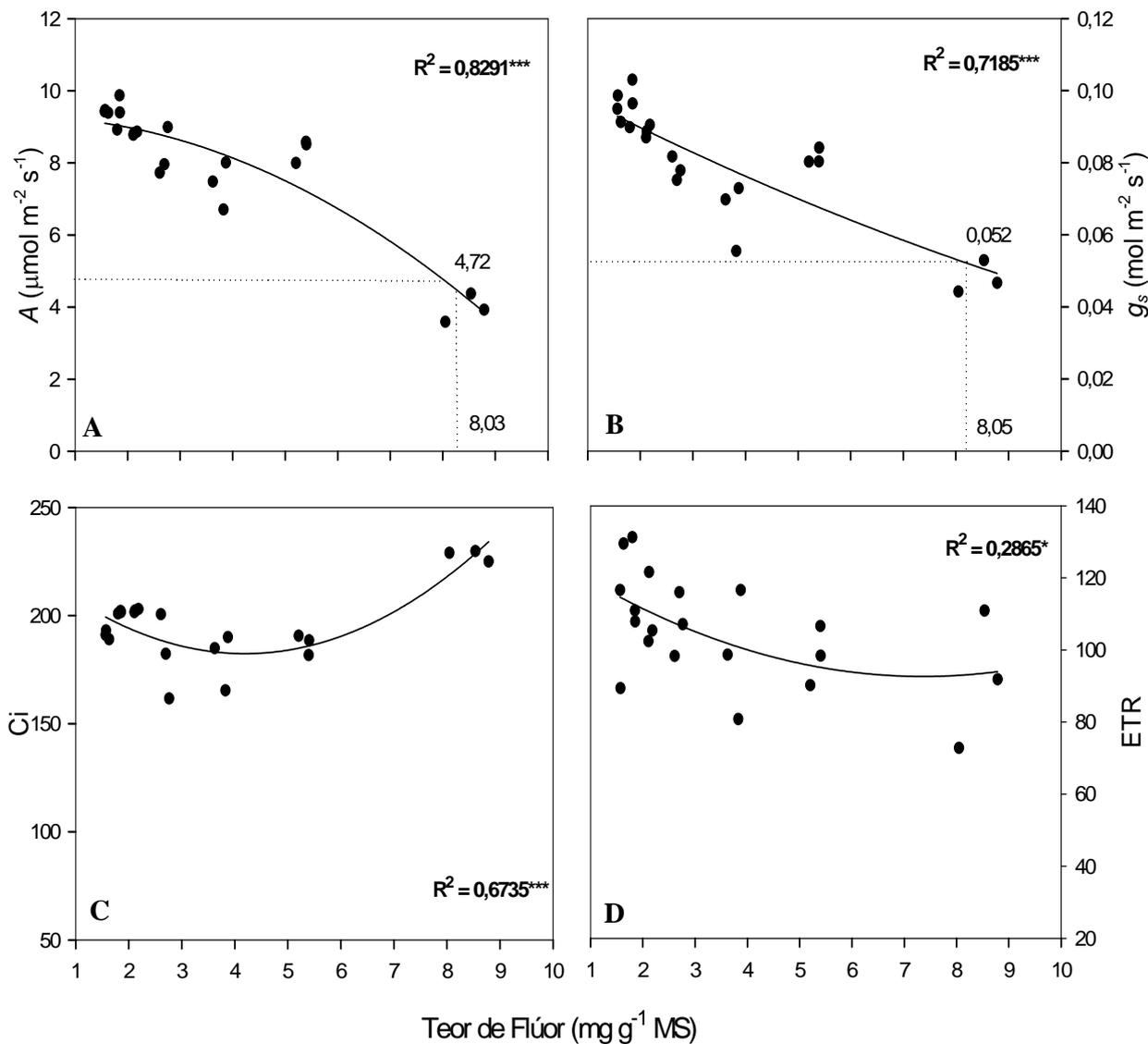


Figura 28: Parâmetros fotossintéticos em função da concentração de flúor em *T. granulosa*. A- taxa fotossintética (A), B- condutância estomática (g_s), C- concentração interna de carbono (Ci), D- taxa de transporte de elétrons (ETR), E- teor de clorofila *a*, F- teor de clorofila *b*. As linhas tracejadas indicam o teor de flúor nas folhas capaz de causar redução de 50% nos parâmetros avaliados. Os dados foram submetidos à análise de regressão apresentando modelo quadrático (* : $p < 0,05$; ** : $p < 0,001$; *** : $p < 0,0001$).

DISCUSSÃO

Sintomatologia visual e absorção de flúor

A exposição diária das plantas ao flúor resultou no aparecimento de sintomas de injúria foliar característicos desse poluente em todas as espécies avaliadas, exceto em *E. erythropappus*. As manchas cloróticas e as necroses presentes provavelmente indicam pontos de maior concentração do poluente, causando os danos mais drásticos à região. Os sintomas de cloroses surgiram primeiro e, posteriormente, evoluíram para necroses apicais e marginais, como é relatado para o flúor (Ardnt *et al.* 1995, Fornasiero 2001, Abdallah *et al.* 2006, Divan Junior *et al.* 2007). *P. maximum* apresentou os maiores teores de fluoreto na matéria seca, assim como, a maior sensibilidade aos sintomas visíveis causados pelo poluente, como era o esperado. Segundo Oliva & Figueiredo (2005) e Divan Júnior *et al.* (2007) essa espécie apresenta elevados teores de flúor nas folhas associado a elevada sensibilidade, sendo considerada uma espécie bioindicadora de reação ao poluente.

Em *T. granulosa* e *S. terebinthifolius* foram necessários vários dias de exposições a doses elevadas de flúor para o aparecimento dos primeiros sintomas de injúrias visíveis. Na primeira espécie, as necroses foram mais severas do que na segunda. *T. granulosa* possui folhas bastante pilosas. Esses pêlos, talvez, possam canalizar e reter a solução de flúor nas folhas, facilitando assim sua penetração nessas regiões e aumentando seus efeitos, como foi sugerido por Azevedo (1995). Os sintomas de clorose estão, provavelmente, relacionados a danos causados aos cloroplastos, reduzindo o teor de pigmentos fotossintéticos (Bustamante *et al.* 1993, Peixoto *et al.* 2005, Reddy & Kaur 2008).

Em *T. granulosa* e *S. terebinthifolius* os teores de flúor ao término das exposições foram semelhantes nas duas espécies. Em *E. erythropappus*, entretanto, observou-se os menores teores desse poluente e nenhum sintoma de injúria foliar visível. Provavelmente essa espécie possui algum mecanismo que impeça, ou reduza a absorção desse poluente, limitando assim seu acúmulo no interior celular e o posterior dano. Esse mecanismo pode estar associado à anatomia foliar dessa espécie, que possui a epiderme foliar superior coberta por tricomas glandulares (Ribeiro 2006). Esses tricomas são bastante numerosos e podem criar uma barreira ou cobertura protetora, impedindo que a flúor permaneça retido na superfície foliar por tempo prolongado. A absorção e o acúmulo de flúor nos tecidos vegetais dependem de numerosos fatores, tais

como o estágio de desenvolvimento, ciclo de vida, anatomia e morfologia da folha, mecanismos de desintoxicação, translocação e eliminação do poluente, são características específicas de determinada espécie, que interferem diretamente na absorção e no acúmulo do poluente (Arndt *et al.* 1995). Geralmente, as concentrações desse ânion encontrada nas plantas são baixas, entre 1 e 10 $\mu\text{g g}^{-1}$ MS na maioria das espécies (Weinstein 1988). No entanto, certas famílias, Theaceae, Diapensiaceae, Melastomataceae e Rubiaceae, são capazes de acumular centenas, eventualmente, milhares de microgramas de fluoreto sem manifestar nenhum sintoma visível (Weinstein & Davidson 2003, Rey-Asensio & Carballeira 2007).

Efeito do flúor sobre a fotossíntese

O cloroplasto constitui o principal local de acúmulo do flúor, onde o poluente causa efeitos danosos sobre as taxas fotossintéticas (Miller 1993). Os maiores efeitos nos parâmetros fotossintéticos foram observados em *P. maximum*. Em *T. granulosa* e *S. terebinthifolius* foi necessário um período maior de exposição ao poluente para se observar reduções significativas nas taxas fotossintéticas. No entanto, nessas três espécies, foi possível observar quedas nas taxas fotossintéticas e na condutância estomática, antes que algum sintoma de injúria foliar crítico fosse evidenciado.

Os efeitos observados na condutância estomática, principalmente, nos indivíduos de *P. maximum* e *T. granulosa* (CL 50), pode ter contribuído na redução nas taxas fotossintéticas dessas espécies, em resposta ao flúor. Por outro lado, a resistência estomática apresentada por *E. erythropappus*, possivelmente, colaborou com a manutenção das taxas fotossintéticas relativamente constantes, ao longo das aplicações do fluoreto. Segundo Sant'Anna-Santos (2008) em experimento realizado em campo, as injúrias microscópicas visualizadas nas folhas de *Spondias dulcis* estavam, principalmente, associadas à face abaxial da folha, onde se localizam os estômatos. Essas injúrias causadas pelo flúor nas células-guardas, provavelmente, induziram fechamento estomático contribuindo para a redução nas taxas fotossintéticas. Pequeno estímulo na fotossíntese foi registrado em *E. erythropappus* e *S. terebinthifolius* nos primeiros dias de aplicação dos nevoeiros contendo flúor. Estímulo semelhante, relatado por Bustamante *et al.* (1993) em plantas de soja, foi relacionado à recuperação da taxa fotossintética após os tratamentos, uma vez que este parâmetro foi medido 16 h após a última simulação. No presente trabalho, esse parâmetro foi medido a cada 24 horas após

a última exposição. Darral & Jäger (1984) sugerem que os efeitos residuais causados pela exposição ao flúor podem permanecer por somente 2-3 h depois do término do tratamento.

A taxa fotossintética pode também ter sido afetada pela redução no teor de pigmentos fotossintéticos nas espécies avaliadas e, conseqüentemente, nas reações luminosas dos centros de reações. Em *P. maximum* o decréscimo nos teores de clorofila *a* e clorofila *b* foi mais expressivo, enquanto em *T. granulosa*, observam-se as menores variações nos teores de clorofilas e também as maiores concentrações desses pigmentos nas folhas. Os teores de pigmentos fotossintéticos variam de acordo com a espécie, sendo assim característica específica que pode influenciar na sensibilidade ou na tolerância das plantas ao poluente. A redução nos teores desses pigmentos pode ser resultado da degradação do cloroplasto, principal local de acúmulo do flúor nas células (Miller 1993). Além disso, o flúor é elemento fortemente eletronegativo e capaz de se ligar a íons de magnésio e outros íons, formando fluoretos metálicos. A formação desses complexos impede a ligação dos íons de Mg^{+2} ao anel porfirínico, durante a síntese de clorofilas, levando ao aparecimento de cloroses em algumas porções foliares (McNulty & Newmam 1961, Miller 1993, Fornasiero 2001, Abdallah *et al.* 2006).

O fato de as plantas de *P. maximum*, *S. terebinthifolius* e *T. granulosa* submetidas ao tratamento com fluoreto terem mostrado aumento na razão C_i/C_a e, conseqüentemente, na concentração interna de carbono (C_i) nas folhas e redução nas taxas fotossintéticas, sugere inibição bioquímica do processo de assimilação do carbono, em resposta ao poluente. Como relatado anteriormente, o flúor possui capacidade de se ligar a íons de magnésio e tal ligação pode causar inibição da atividade carboxilativa da RUBisco (Nilsson & Brandén 1983). Quick *et al.* (1989) associaram a redução observada na fotossíntese com a menor translocação de fosfato inorgânico para os cloroplastos, resultante da inibição na síntese de sacarose devido à inibição da enolase pelo fluoreto e maior utilização da via das pentoses fosfato.

Os parâmetros de fluorescência da clorofila *a* podem ser afetados por alterações causadas pelo flúor nos cloroplastos (Miller 1993, Sant'Anna-Santos 2008) e a formação de espécies reativas de oxigênio (Peixoto *et al.* 2005) devido à ação desse poluente. A redução dos teores de pigmentos fotossintéticos interfere na captação da energia luminosa pelo complexo antena, podendo ocasionar aumento na emissão da fluorescência mínima (F_o), como foi observado em *E. erythropappus*, *S. terebinthifolius* e *T. granulosa* ao término do tratamento com o flúor. O aumento do valor de F_o pode

ser atribuído ao comprometimento do centro de reação do PSII ou a transferência de energia de excitação do complexo antena para o centro de reação foi prejudicada em resposta ao poluente (Bolhár-Nordenkampf *et al* 1989). A razão Fv/Fm diminuiu nas plantas nativas estudadas da Estação Ecológica do Tripuí expostas ao poluente, indicando redução da eficiência dos centros de reações na utilização dos fótons capturados nas reações fotoquímicas primárias no PSII (Krause & Weis 1991). A taxa de transporte de elétrons e o *quenching* fotoquímico (qP) também foram reduzidos em *S. terebinthifolius* e *T. granulosa* em resposta às aplicações de fluoreto. Por outro lado, houve aumento no *quenching*-não fotoquímico (qN e NPQ) nestas espécies. Plantas de *Spinacia oleracea* submetidas a tratamento com flúor não apresentaram modificações nos parâmetros de fluorescência rápida (Fo, Fm e Fv/Fm), mas a fluorescência lenta foi alterada com adição de concentrações crescentes de flúor, causando decréscimo no *quenching* não-fotoquímico e aumento no *quenching* fotoquímico (Boese *et al.* 1995). Foi sugerido que o flúor atua como desacoplador acelerando o fluxo de elétrons no fotossistema II, sem a formação simultânea do gradiente de prótons. Neste presente trabalho, o aumento dos *quenching* não fotoquímico e a redução do *quenching* fotoquímico, possivelmente, foram ocasionados pelo comprometimento no transporte de elétrons entre os dois fotossistemas. Divan Junior *et al.* 2007 não observaram alterações significativas nos parâmetros de fluorescência da clorofila *a* avaliados no capim colônio, *P. maximum*, resultados semelhantes aos encontrados neste presente estudo para a mesma espécie

Foi observado efeito não usual do poluente sobre o teor de carotenóides. A partir do vigésimo dia de exposição, observou-se tendência de aumento nos teores de carotenóides em *T. granulosa* submetidas ao fluoreto, diferindo do que tem sido relatado na literatura (Bustamante *et al.*1993; Peixoto *et al.* 2005; Sant'Anna-Santos 2008; Reddy & Kaur 2008) . Os carotenóides atuam como agentes protetores, reduzindo o estado excitado da clorofila e dissipando a energia na forma de calor por meio do *quenching* não fotoquímico (NPQ) através do ciclo das xantofilas. Bustamante *et al.* (1993) sugeriram que o flúor aplicado na forma de aspersões consecutivas pode causar erosão da cera epicuticular. A destruição da cutícula foliar, possivelmente, resultaria na diminuição da refletância e na maior incidência da luminosidade sobre as folhas de *T. granulosa*, ativando assim o ciclo das xantofilas como forma de proteger o maquinário fotossintético da fotoinibição. Em condições de alta luminosidade o ciclo é ativado, os prótons da zeaxantina se ligam às proteínas da antena de captação de luz causando

mudanças na conformação o que levam ao *quenching* não fotoquímico (NPQ) e à dissipação de calor (Demmig - Adams & Adams 1992). Em *T. granulosa*, o aumento do NPQ ocorreu simultaneamente com o acréscimo no conteúdo de carotenóides.

Imagens da fluorescência da clorofila a

As imagens da fluorescência da clorofila *a* mostraram que os maiores danos do poluente se localizaram nas margens foliares. Nessa região foram observados visualmente os sintomas de injúrias e onde também foi evidenciada a diminuição na razão Fv/Fm. Nas áreas necrosadas, houve redução dos valores de Fo comprovando o comprometimento da dissipação da energia pelos centros de reações. Nas imagens de fluorescência mínima de *P. maximum*, *E. erythropappus* e *S. terebinthifolius* expostas ao tratamento com flúor, as folhas apresentaram coloração amarela, evidenciando a tendência de aumento de Fo nessas espécies. Ao contrário, *T. granulosa*, mostrou coloração alaranjada, indicando redução do Fo em resposta ao poluente. As alterações nos valores de Fo mostram que a transferência de energia de excitação do complexo antena para o centro de reação foi prejudicada pela ação do poluente nessas espécies (Lichtenthaler & Miehé 1997). Nas imagens da eficiência quântica máxima do PSII, as plantas submetidas ao flúor apresentaram coloração azulada, evidenciando queda na razão Fv/Fm e comprometimento da utilização dos fótons capturados na etapa fotoquímica, enquanto nas plantas controle, as imagens apresentaram cores mais próximas ao violeta (Calatayud *et al.* 2006). As manchas de coloração mais clara, presentes nas imagens de Fv/Fm, indicam regiões de injúria nas folhas. Nos indivíduos de *P. maximum* essas manchas foram muito freqüentes nas margens foliares, entretanto, nas espécies nativas da Estação Ecológica do Tripuí, essas manchas foram observadas em alguns poucos indivíduos nas imagens da fluorescência avaliadas.

Nas três espécies nativas e de ampla distribuição na vegetação da Estação Ecológica do Tripuí, foi necessário um tempo prolongado a doses elevadas de flúor para aparecimento dos primeiros sintomas de injúrias, *T. granulosa* foi a espécie que primeiro manifestou os sintomas de injúria foliar e apresentou a maior sensibilidade nos parâmetros relacionados à fotossíntese. Por outro lado, *E. erythropappus* apresentou forte resistência aos efeitos do poluente, não apresentando nenhum sintoma visível de injúria foliar e nenhuma modificação nas taxas fotossintéticas, condutância estomática, Ci e ETR (CL 50) não foram sensíveis ao flúor. Como relatado anteriormente, provavelmente essa espécie possui um mecanismo que impeça ou dificulte a absorção

do flúor através das folhas, sendo possível que este mecanismo esteja associado à anatomia foliar dessa espécie. Talvez essa resistência, contribua para o domínio da espécie na vegetação da Estação Ecológica do Tripuí (Pedralli *et al.* 1997). De acordo com Scolforo *et al.* (2003) *E. erythropappus* é espécie pioneira, heliófila, com crescimento rápido em solos rasos e pouco férteis e adaptadas a diversos tipos de ambiente. Os mecanismos de tolerância ao flúor presentes nessa espécie, juntamente com sua plasticidade adaptativa, pode ter contribuído para o domínio dessa espécie na vegetação existente na região de Ouro Preto-MG.

A poluição pode ter efeito sob a competição entre as espécies e assim, resultar em alterações no ecossistema. O crescimento de uma espécie pode ser beneficiado em função do efeito inibidor da poluição sobre outra espécie, o que pode ocasionar na descaracterização da vegetação original (Silva *et al.* 2000). A resistência aos efeitos causados pelo flúor, portanto, pode ser uma explicação para ocupação da vegetação existente na Estação Ecológica do Tripuí, onde as espécies pioneiras e resistentes podem ter sido beneficiadas. Porém, para maior elucidação desse aspecto, são necessários estudos que avaliem o acúmulo e o aparecimento de sintomas nessas espécies em condições de campo, onde diversos fatores como, a irradiância, temperatura, velocidade e direção dos ventos, as frequências e as intensidades das exposições, pode modificar a resposta de plantas aos poluentes (Arndt *et al.* 1995).

CONCLUSÕES

No presente trabalho, as espécies exibiram níveis diferentes de tolerância em relação aos efeitos causados pelo flúor, apresentando diferenças na absorção e no acúmulo desse poluente na matéria seca.

Das três espécies nativas e representativas da flora da Estação Ecológica do Tripuí, *T. granulosa* foi a mais sensível aos efeitos do poluente. *E. erythropappus* foi a espécie mais resistente, porém o mecanismo envolvido nessa resistência ainda precisa ser melhor elucidado.

A análise das imagens da fluorescência da clorofila *a* e as medições das trocas gasosas foram metodologias úteis, rápidas e não destrutivas de avaliação dos efeitos causados pelo poluente sobre o maquinário fotossintético, antecedendo os sintomas críticos de injúria foliar. Portanto, essas metodologias, especialmente a taxa de transporte de elétrons (ETR), podem ser empregadas como biomarcadores no diagnóstico de contaminação ambiental por flúor na vegetação de áreas sujeitas às exposições frequentes desse poluente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdallah, F.B.; Elloumi, N.; Mezghani, I.; Boukhris, M.; Garrec, J.P. 2006. Survival strategies of pomegranate and almond trees in a fluoride polluted area. *Comptes Rendus Biologies*, 329, 200–207.
- Alves, P.L. C.A.; Oliva, M. A.; Cambraia, J.; Sant'Anna, R. 1995. Efeitos da chuva ácida simulada e de um solo de Cubatão (SP) sobre os parâmetros relacionados com a fotossíntese e a transpiração de plantas de soja. *Revista Brasileira Fisiologia de Vegetal*, v.2, p.7-14.
- Arndt, U.; Flores, F.; Weinstein, L. 1995. *Efeitos do flúor sobre as plantas: Diagnóstico de danos na vegetação do Brasil*. Porto Alegre: UFRGS, 155pp.
- Azevedo, A.A. 1995. *Ação do flúor, em chuva simulada, sobre a estrutura foliar de Glycine max (L.) Merril*. Dissertação de doutorado. Universidade de São Paulo. São Paulo – SP.
- Baker, N.R.; Oxborough, Lawson, T.K.; Morison J.I.L. 2001. High resolution imaging of photosynthetic activities of tissues, cells and chloroplasts in leaves. *Journal of Experimental Botany* 52: 615-62.
- Ballantyne, D.J., Glover, B.L. 1981. Chloroplast electron transport, protein and RNA in fluoride-treated pea shoots. *Environmental and Experimental Botany*, v.21, p. 83-88.
- Barbagallo, R.P.; Oxborough, K.; Pallett, K.E.; Baker, N.R. 2003. Rapid, noninvasive screening for perturbations of metabolism and plant growth using chlorophyll fluorescence imaging. *Plant Physiology*. 132: 485–493.
- Bilger, W.; Schreiber, U.; Bock, M. 1995. Determination of the quantum efficiency of photosystem II and of non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence in the field. *Oecologia* 102, 425-432.
- Boese, S.R.; Maclean, D.C.; El-Mogazi, D. 1995. Effects of fluoride on chlorophyll *a* fluorescence in spinach. *Environmental Pollution*, Vol. 89, No. 2, pp. 203-208.
- Bolhàr-Nordenkampf, H.R.; Long, S.P., Baker, N.R. 1989. Chlorophyll fluorescence as probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: a review of current instrument. *Functional Ecology*. 3: 497-514.
- Bustamante, M.; Oliva, M. A.; Sant'Anna, R.; Lopes, N. F. 1993. Sensibilidade da soja ao flúor. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, v.5, p.151-157.

- Calatayud, A.; Roca, D.; Martínez, P.F. 2006. Spatial-temporal variations in rose leaves under water stress conditions studied by chlorophyll fluorescence imaging *Plant Physiology and Biochemistry* 44: 564–573.
- Chaves, A. L. F.; Silva, E.A.M.; Azevedo, A.A.; Oliva, M.A.O.; Matsuoka, K. 2002. Ação do flúor dissolvido em chuva simulada sobre a estrutura foliar de *Panicum maximum* Jacq. (Colonião) e *Chloris gayana* Kunth. (Capim-Rodes)-Poaceae. *Acta botânica brasílica*, 16 (4).
- Darral, N.M. & Jager, H.J. 1984. Biochemical diagnostic tests for the effect of air pollution on plants. In: *Gaseous Air Pollutants and Plant Metabolism*. London, Butterwooths p.333-349.
- Darrall, N. M. 1989. The effect of air pollutants on physiological processes in plants. *Plant Cell Environment*, v.12, p.1-30.
- Demmig-Adams, B. & Adams, W.W. 1992. Photoprotection and Other Responses of Plants to High Light Stress. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 43: 599-626.
- Divan Junior, A.M.; Oliva, M.A.; Martinez, C.A. & Cambraia, J. 2007. Effects of fluoride emissions on two tropical grasses: *Chloris gayana* and *Panicum maximum* cv. Colonião. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 67: 247-253.
- Divan Junior, A.M.; Oliva, M.A. & Ferreira, F.A. 2008. Dispersal pattern of airborne emissions from an aluminium smelter in Ouro Preto, Brazil, as expressed by foliar fluoride accumulation in eight plant species, *Ecological Indicators* 8: 454-461.
- Domingos, M.; Klumpp, A.; Rinaldi, M.C.S.; Modesto, I.F.; Klumpp, G.; Delitti, W.B.C. 2003. Combined effects of air and soil pollution by fluoride emissions on *Tibouchina pulchra* Cogn., at Cubatão, SE Brazil, and their relations with aluminium. *Plant and Soil* 249: p. 297–308.
- Ehleringer, J. 1981. Leaf absorptances of Mohave and Sonoran desert plants. *Oecologia* 49, 366-370.
- Evans, L. S.; Gmur, N.F.; Da Costa, F. 1977. Leaf surface and histological perturbations of leaves of *Phaseolus vulgaris* and *Helianthus annuus* after exposure to simulated acid rain. *American Journal of Botany*, v.64, p.903-913.

- Falla, J.; Laval Gilly, P.; Henryon, M.; Morlot, D.; Ferard, F. Biological air quality monitoring: a review. *Environmental Monitoring and Assessment*, v. 64, p.627-644, 2000.
- Façanha A. R. & de Meis L. 1995. Inhibition of maize root H⁺-ATPase by fluoride and fluoroaluminate complexes. *Plant Physiology* 1995, 108: 241-246.
- FEAM, Automonitoramento da qualidade do ar em Ouro Preto-MG, 2002.
- Fornasiero, R. B. Phytotoxic effects of fluoride. *Plant Science*, v. 161, p.979-985. 2001.
- Franzaring, J.; Hrenn, H.; Schumm, C.; Klumpp, A.; Fangmeier, A. 2006. Environmental monitoring of fluoride emissions using precipitation, dust, plant and soil samples. *Environmental Pollution* 144, 158-165.
- García-Ciudad, A.; García-Criado, B.; Potón-San Emetrio, C. 1985. Determination of fluoride in plant samples by a potentiometric method and near-infrared reflectance spectroscopy. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, v.16, p.1107-1122.
- Giannini, J., Miller, G.W., Pushnik, J.C. 1985. Effects of NaF on biochemical processes of isolated soybean chloroplasts. *Fluoride*, v. 18, nº 2, p. 72-79.
- Guidi, L.; Tonini, M.; Soldatini, M. F. 2000. Effects of high light and ozone fumigation on photosynthesis in *Phaseolus vulgaris*. *Plant Physiology and Biochemistry*, v.38, p. 717-725.
- Hiscox, J.D. & Israelstam, G.F. 1979. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. *Canadian Journal of Botany* 57:1332-1334.
- Klumpp, A., Klumpp, G., Domingos, M. 1994. Plants as bioindicators of air pollution at the Serra do Mar near the industrial complex of Cubatão, Brazil. *Environmental Pollution*, v. 85, p. 109-116.
- Klumpp, G., Klumpp, A., Domingos, M., Guderian, R. 1995. Hemerocallis as bioindicator of fluoride pollution in tropical countries. *Environmental Monitoring and Assessment*, v. 35, p. 27-42.
- Klumpp, A., Klumpp, G., Domingos, M., Da Silva, M.D. 1996. Fluoride impact on native tree species of the Atlantic forest near Cubatão, Brazil. *Water, Air, and Soil Pollution*, v. 87, p. 57-71.
- Klumpp, A., Domingos, M., Moraes, R.M., Klumpp, G. 1998. Effects of complex air pollution on tree species of the Atlantic Rain Forest near Cubatão, Brazil. *Chemosphere* 36, 989-994.

- Krause, G. H. Photoinhibition of photosynthesis. 1998. An evaluation of damaging and protective mechanisms. *Physiologia Plantarum*, v.7, p.566-574.
- Krause, G. H.; Weiss, E. 1991. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The basics. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, v.42, p.313-349.
- Laisk, A. & Loreto, F. 1996 Determining photosynthetic parameters from leaf CO₂ exchange and chlorophyll fluorescence. *Plant Physiology* 110, 903-912.
- Larsen, S. & Widdowson, A.E. 1971. Soil fluorine. *Journal of Soil Science* 22: 210-221.
- Lichtenthaler, H.K.; Miehe, J.A. 1997. Fluorescence imaging as a diagnostic tool for plant stress. *Trends in Plant Science* 2: 316–320.
- Maurer, M., Nowak, T. Fluoride inhibition of yeast enolase. I. Formation of the ligand complexes. *Biochemistry*, v. 20, p. 6894-6900, 1981.
- McNulty, I. B.; Newman, D. W. Mechanism of fluoride induced chlorosis. *Plant Physiology*, v. 36. n° 4, p. 385 – 388, 1961.
- Mendelssohn, I.A.; Mckee, K.L.; Kong, T. A comparison of physiological indicators of sub lethal cadmium stress in wetland plants. *Environmental and Experimental Botany*, v.46, p.263-275, 2001.
- Miller, G.W. 1993. The effects of fluoride on higher plants – With special emphasis on early physiological and biochemical disorders. *Fluoride*, v. 26, n° 1, p. 3-22.
- Miller, J.E.; Miller, G.W. 1974. Effects of fluoride on mitochondrial activity in higher plants. *Plant Physiology*, v.32, p.115-121.
- Nilsson, T., Brändén, R. 1983. Kinetic study of the interaction between ribulose biphosphate carboxylase/oxygenase and inorganic fluoride. *Biochemistry*, v. 22, p. 1641-1645.
- Oliva, M.A., Figueiredo, J.G., 2005. Gramíneas bioindicadoras da presença de flúor em regiões tropicais. *Revista Brasileira de Botânica* 28, 389–397.
- Parry, M.A.J., Schmidt, C.N.G., Gutteridge, S. 1984. Inhibition of ribulose-P₂ carboxylase/oxygenase by fluoride. *Journal of Experimental Botany*, v. 35, n° 157, p. 1177-1181.
- Pedralli, G., Freitas, V.L.O., Meyer, S.T., Teixeira, M.C.B., Gonçalves, A.P.S. 1997. Levantamento florístico na Estação Ecológica do Tripuí, Ouro Preto, MG. *Acta Botanica Brasilica*, v. 11, p. 191-213.

- Peixoto, P.H.P.; Pimenta, D.S. & Antunes, F. 2005. Efeitos do flúor em folhas de planta aquáticas de *Salvinia auriculata*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 40: 727-734.
- Quick, P., Neuhaus, E., Feil, R., Stitt, M. 1989. Fluoride leads to an increase of inorganic pyrophosphate and an inhibition of photosynthetic sucrose in spinach leaves. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 973, p. 263-271.
- Ralph, P. J.; Burchett. M. D. Impact of petrochemical on the photosynthesis of *Halophila ovalis* using chlorophyll fluorescence. *Marine Pollution Bulletin*, v.36, p. 429-436, 1998.
- Reddy, M. P. & Kaur, M. 2008. Sodium fluoride induced growth and metabolic changes in *Salicornia brachiata* Roxb. *Water Air Soil Pollution* 188: 171–179.
- Rey-Asensio, A.; Carballera, A. 2007. *Lolium perene* as a biomonitor of atmospheric levels of fluoride. *Environment International* 33, 583-588.
- Ribeiro, S. F. C. 2006. *Análise ecológica e anatômica da herbivoria foliar em indivíduos de Eremanthus erytropappus (DC) Macleish e Eremanthus incanus (Less) Less - Asteraceae, submetidos a altas concentrações de metais pesados no município de Ouro Preto-MG*. Monografia de conclusão de curso apresentada ao Departamento de Ciências Exatas e Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto. Ouro Preto - MG, 60 p.
- Roger, M. J. R.; Weiss, O. 2001. Fluorescence techniques. In: Roger, M. J. R. (Ed), *Handbook of plant ecophysiology techniques*. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, p.155
- Ross, C.W., Wiebe, H.H., Miller, G.W. 1962. Effect of fluoride on glucose catabolism in plant leaves. *Plant Physiology*, v. 37, p. 305-309.
- Rutherford, M.C., Midgley, G.F., Davis, G.W. 1993. Covert symptoms of pollution stress in introduced vegetation near Cape Town. *South African Journal of Science*, v. 89, p. 50-51.
- Sant' Anna-Santos, B. F. 2008. *Avaliação dos efeitos fitotóxicos do flúor em Spondias dulcis Forst F. (Anacardiaceae), espécie tropical sensível*. Dissertação de doutorado, Universidade Federal de Viçosa. Viçosa - MG, 102 p.
- 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*, v.23, n.4, p.383-391.

- Scolforo J.R., Oliveira A.D. De, Davide A.C., Camolesi J.F. 2003. *Manejo sustentado das candeias: Eriophorum erythropappus e Eriophorum incanum*. Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- Vike, E. Air-pollutant dispersal patterns and vegetation damage in the vicinity of three aluminum smelters in Norway. *The Science of the Total Environment*. v. 236, p. 75-90, 1999.
- Viola, R.; Davies, H.V. 1991. Fluoride-induced inhibition of starch biosynthesis in developing potato, *Solanum tuberosum* L., tubers is associated with pyrophosphate accumulation. *Plant Physiology*, v. 97, p. 638-643.
- Walna, B.; Kurzyca, I.; Siepak, J. 2007. Variations in the fluoride level in precipitation in a region of human impact. *Water Air Soil Pollution* 7, 33–40.
- Weinstein, L.H., Hansen, K.S. 1988. Relative susceptibilities of Brazilian vegetation to airborne fluoride. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 23, nº. 10, p. 1125-1137.
- Weinstein, L.H.; Davison, A.W. 2003. Native plant species suitable as bioindicators and biomonitors for airborne fluoride. *Environmental Pollution* 125, 3–11.
- Wellburn, A. R. 1994. 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*. 144, n. 3, p. 307-313.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)