



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

Departamento de Botânica

**Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal**



**UFMG**

**ADVANIO INÁCIO SIQUEIRA SILVA**

**EFEITO DA DEPOSIÇÃO DA POEIRA DE CIMENTO NA  
ESTRUTURA FOLIAR, ULTRAESTRUTURA CELULAR E  
EM VARIÁVEIS FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DE  
ESPÉCIES LENHOSAS NATIVAS**

**Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em  
Biologia Vegetal do Departamento de Botânica do  
Instituto de Ciências Biológicas da Universidade  
Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à  
obtenção do título de Doutor em Biologia Vegetal.**

**Área de Concentração: Morfologia Vegetal**

**BELO HORIZONTE – MG**

**2014**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

Departamento de Botânica

**Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal**



**UFMG**

**ADVANIO INÁCIO SIQUEIRA SILVA**

**EFEITO DA DEPOSIÇÃO DA POEIRA DE CIMENTO NA  
ESTRUTURA FOLIAR, ULTRAESTRUTURA CELULAR E  
EM VARIÁVEIS FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DE  
ESPÉCIES LENHOSAS NATIVAS**

**Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em  
Biologia Vegetal do Departamento de Botânica do  
Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal  
de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do  
título de Doutor em Biologia Vegetal.**

**Área de Concentração: Morfologia Vegetal**

**Orientador: Prof. Dr. Élder Antônio Sousa e Paiva  
Universidade Federal de Minas Gerais**

**Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Luzia Valentina Modolo  
Universidade Federal de Minas Gerais**

**BELO HORIZONTE – MG**

**2014**

043

Siqueira-Silva, Advanio Inácio.

Efeito da deposição da poeira de cimento na estrutura foliar, ultraestrutura celular e em variáveis fisiológicas e bioquímicas de espécies lenhosas nativas [manuscrito] / Advanio Inácio Siqueira Silva. – 2014.

85 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientador: Élder Antônio Sousa e Paiva. Coorientadora: Luzia Valentina Modolo.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Departamento de Botânica.

1. *Cedrela fissilis* - Teses. 2. *Guazuma ulmifolia* – Teses. 3. *Myracrodruon urundeuva* - Teses. 4. *Trichilia hirta* – Teses. 5. Cimento – Poluição – Teses. 6. Anatomia vegetal – Teses. 7. Fotossíntese – Teses. 8. Sistema antioxidante. 9. Afloramentos calcários. 10. Biologia vegetal – Teses. I. Paiva, Élder Antônio Sousa. II. Modolo, Luzia Valentina. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Departamento de Botânica. IV. Título.

CDU: 581



UFMG

**Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal**  
Universidade Federal de Minas Gerais  
ICB - Departamento de Botânica

*Tese defendida e aprovada em 18 de fevereiro de 2014, pela Banca Examinadora constituída pelos professores:*

Dr. Élder Antônio Sousa e Paiva orientador

Dr. José Pires de Lemos Filho

Dra. Aristéa Alves Azevedo

Dr. Eduardo Gusmão Pereira

Dra. Luzimar Campos da Silva

A Deus e a todos que, direta  
ou indiretamente, contribuíram  
para esta conquista.

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), ao Departamento de Botânica, por toda infraestrutura de trabalho e pela oportunidade de cursar o doutorado;

À CAPES pela concessão da bolsa de estudo em meu primeiro ano de doutorado;

Ao CNPq pela concessão da bolsa de doutoramento nos demais anos, bem como pelo financiamento da presente pesquisa (473261/2010-3);

À FAPEMIG pelos auxílios na participação em congressos e eventos científicos;

Em especial, ao meu orientador professor Élder Antônio Sousa e Paiva por sua contribuição não só ao meu trabalho, mas principalmente à minha vida profissional, pois sempre o terei como um exemplo a ser seguido;

À minha coorientadora professora Luzia Valentina Modolo, pelos ensinamentos, amizade e ajuda durante os ensaios enzimáticos;

Ao professor José Pires de Lemos Filho pelos ensinamentos, direcionamento e ajuda na área de Fisiologia Vegetal;

À professora Denise Maria Trombert de Oliveira pela amizade, conselhos e incentivo durante todo o doutorado. Obrigado por ter aberto as portas da UFMG e pela grande contribuição na minha formação;

Aos professores formadores, em especial do Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal da UFMG;

À banca examinadora da tese, pelo aceite do convite e pela contribuição na minha maturidade profissional;

À minha avó Hipólita, minha mãe Joelina e meus irmãos Alvarino e Júlio, pelo incentivo, força e apoio em todos os momentos. Sem a ajuda de vocês esta conquista seria impossível;

Aos meus familiares, especialmente Célia Regina e Ronan Miranda pelo grande incentivo;

À Josiane Oliveira, pelo amor e apoio incondicional em todos os momentos. Esta conquista não é fruto único do esforço individual e você contribuiu em muito para nossa vitória;

Ao amigo professor Eduardo Gusmão Pereira pela disponibilidade, incentivo e ajuda durante todos os momentos do doutorado. Qualquer palavra que eu escreva neste momento não expressará o tanto que sou grato;

Ao amigo professor Orlando Cavallari de Paula pelo incentivo e convívio durante parte do doutorado;

Ao amigo e técnico do laboratório de Anatomia Vegetal, Wagner Afonso, por toda ajuda e presteza;

Ao amigo Jonilson Pissinati, pelo incentivo e desenho esquemático da câmara de deposição;

Ao professor Fernando Augusto de Oliveira e Silveira pela ajuda nas primeiras análises estatísticas dos resultados encontrados;

À Rafaella Cardoso, Sarah Barbosa, Leilane, Elisa Monteze e Anete pela amizade;

Aos colegas do laboratório de Anatomia Vegetal, pelo convívio durante os anos de doutoramento;

Aos colegas do laboratório de Fisiologia e Bioquímica de Plantas, especialmente Raquel Faria pela assistência nas análises enzimáticas;

Aos demais colegas do Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal da UFMG;

Aos professores João Batista, Eduardo Borba, Marcel Giovanni, Queila Garcia e Rosy Mary pelo empréstimo de equipamentos necessários ao desenvolvimento da tese;

Ao pesquisador Pedro Viana pela ajuda na visita técnica a uma indústria cimenteira;

Aos pesquisadores Ary Teixeira e Luciana Kamino pela identificação de uma espécie vegetal utilizada nos experimentos;

À Divisão de Áreas Verdes do Departamento de Gestão Ambiental da UFMG, em especial, ao Paulo e Geneci pelo fornecimento do substrato utilizado nos experimentos;

Ao Laboratório de Sementes Florestais de Belo Horizonte, pertencente à Companhia Energética de Minas Gerais S.A. (Cemig), pela doação das sementes de *Myracrodruon urundeuva*;

Aos funcionários do Departamento de Botânica da UFMG, em especial, Sara Rocha, Terezinha, Paulo, Renato e Maria de Socorro;

Ao CEMEL/ICB/UFMG e suas técnicas, Olga e Ivete, pela colaboração no preparo de amostras para microscopia eletrônica de varredura;

Ao Centro de Microscopia da UFMG (<http://www.microscopia.ufmg.br>) por fornecer equipamentos e suporte técnico para as análises ultraestruturais.

## SUMÁRIO

<b>Resumo.....</b>	<b>01</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>02</b>
<b>Introdução geral.....</b>	<b>03</b>
<b>Objetivo geral.....</b>	<b>04</b>
<b>Objetivos específicos.....</b>	<b>05</b>
<b>Referências bibliográficas.....</b>	<b>05</b>
<b>Capítulo I – <i>Cedrela fissilis</i> Vell. (Meliaceae), espécie lenhosa nativa sensível à poeira de cimento</b>	<b>09</b>
Resumo.....	09
Abstract.....	10
Introdução.....	11
Material e métodos.....	12
Resultados.....	19
Discussão.....	37
Conclusões.....	39
Referências bibliográficas.....	40
<b>Capítulo II - Alterações fotossintéticas e enzimáticas em folhas de três espécies lenhosas nativas em resposta à poeira de cimento</b>	<b>45</b>
Resumo.....	45
Abstract.....	46
Introdução.....	47
Material e métodos.....	48
Resultados.....	51
Discussão.....	62
Conclusões.....	64
Referências bibliográficas.....	65
<b>Capítulo III – Alterações morfoanatômicas em folhas de três espécies lenhosas nativas em resposta à poeira de cimento</b>	<b>68</b>
Resumo.....	68
Abstract.....	69
Introdução.....	70
Material e métodos.....	72



Resultados.....	73
Discussão.....	80
Conclusões.....	81
Referências bibliográficas.....	82
<b>Considerações finais.....</b>	<b>85</b>

## RESUMO

SIQUEIRA-SILVA, Advanio Inácio; D.Sc., Universidade Federal de Minas Gerais, fevereiro de 2014. **Efeito da deposição da poeira de cimento na estrutura foliar, ultraestrutura celular e em variáveis fisiológicas e bioquímicas de espécies lenhosas nativas.** Orientador: Élder Antônio Sousa e Paiva. Coorientadora: Luzia Valentina Modolo.

O presente estudo abordou espécies lenhosas nativas do estado de Minas Gerais, Brasil, ocorrentes em áreas de afloramentos calcários, as quais têm recebido ao longo dos anos, material particulado proveniente das atividades de indústrias cimenteiras. Objetivou-se avaliar os efeitos da poeira de cimento na organização estrutural e ultraestrutural da folha e em variáveis fisiológicas e bioquímicas de *Cedrela fissilis* Vell. (Meliaceae), *Guazuma ulmifolia* Lam. (Malvaceae), *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) e *Trichilia hirta* L. (Meliaceae). Para tal, as plantas foram submetidas às concentrações de 0; 2,5 e 5 mg cm<sup>-2</sup> de material particulado de cimento aplicado em dois momentos sobre a superfície foliar; sobre o solo e sobre a superfície foliar e solo, em condições de exposição controlada e solo padronizado. Entre as espécies avaliadas, houve tolerância diferencial frente à poeira de cimento, sendo *C. fissilis* aquela com maior sensibilidade, o que determinou o encerramento do experimento com esta espécie aos 41 dias após o início das simulações, diferindo das demais espécies (60 dias), consideradas tolerantes à poeira. Em *C. fissilis*, nos tratamentos que receberam o material particulado alcalino na parte aérea da planta, houve clorose e necrose foliar, senescência, enrolamento e queda dos folíolos, aumento das atividades de enzimas do sistema antioxidante, redução na condutância estomática e no rendimento quântico potencial do fotossistema II, entre outros sintomas. Para as quatro espécies vegetais, após aplicação da poeira, houve formação de crosta de cimento na superfície foliar, bloqueio de parte da luz incidente e obstrução dos estômatos, além de alterações nos teores de pigmentos fotossintéticos, na morfoanatomia e composição nutricional, com redução nos teores foliares de Fe, entre outros sintomas. Em termos gerais, os efeitos prejudiciais da poeira foram anteriores às possíveis alterações no pH e composição química do solo, sendo causados em função principalmente do contato do cimento com a superfície foliar. Os resultados obtidos podem subsidiar estratégias de conservação e recuperação de áreas impactadas por indústrias cimenteiras, as quais representam ameaça à biodiversidade local.

## ABSTRACT

SIQUEIRA-SILVA, Advanio Inácio; D.Sc., Universidade Federal de Minas Gerais, february, 2014. **Effect of cement dust deposition on leaf structure, cell ultrastructure and in physiological and biochemical variables in native woody species.** Adviser: Élder Antônio Sousa e Paiva. Co-adviser: Luzia Valentina Modolo.

The present study focused on native woody species in the state of Minas Gerais, Brazil, occurring in areas of limestone outcrops, which have received in over years particulate matter from cement factories activities. The work evaluated the effects of cement dust on the structural and ultrastructural organization of the leaf and in physiological and biochemical variables of *Cedrela fissilis* Vell. (Meliaceae), *Guazuma ulmifolia* Lam. (Malvaceae), *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) and *Trichilia hirta* L. (Meliaceae). To this end, plants were exposed to concentrations of 0; 2.5 and 5 mg cm<sup>-2</sup> of cement particulate matter applied at two moments on the leaf surface; on the soil and the leaf surface and soil, in controlled exposure conditions and standardized soil. Among the studied species, there was differential tolerance for the cement dust, and *C. fissilis* was the one with the highest susceptibility, which led to the closure of the experiment with this species at 41 days after the start of the simulations, differing from other species (60 days) considered tolerant to dust. In *C. fissilis*, in the treatments with alkaline particulate matter on the plant shoot, there was chlorosis and leaf necrosis, senescence, leaflets curling and fall off, increased enzyme activities of the antioxidant system, reduction in stomatal conductance and in the potential quantum yield of photosystem II, among other symptoms. For all four plant species, after application of dust, there was cement crust formation on the leaf surface, blockade of part of the incident light and obstruction of the stomata, besides changes in the levels of photosynthetic pigments, in morphoanatomy and nutritional composition, with reduction in the foliar content of Fe, among other symptoms. In general, the harmful effects of dust were prior to possible changes in pH and chemical composition of the soil, being caused mainly due to the contact of the cement with the leaf surface. The results obtained may support strategies for the conservation and recovery of impacted areas by cement factories, which represent a threat to local biodiversity.

## INTRODUÇÃO GERAL

A indústria cimenteira é uma das principais fontes de material particulado (Grantz et al., 2003; Demir et al., 2005; Işikli et al., 2006, Rodrigues e Joekes, 2011), o qual pode afetar negativamente o funcionamento do ecossistema circundante (Demir et al., 2005; Işikli et al., 2006). Durante o processo de fabricação de cimento, grande quantidade de material particulado é emitido em quase todos os estágios da produção, sendo cerca de 63% originária das operações de moagem do cimento ao final do processo de fabricação, 21% dos fornos de clínquerização, 8% do transporte por caminhões e 8% nas demais atividades (Abdul-Wahab, 2006).

O Brasil se destaca mundialmente na produção de cimento (Rodrigues e Joekes, 2011, SNIC, 2013), concentrando na região sudeste o maior número de indústrias cimenteiras (SNIC, 2013). Nos últimos anos, o crescimento na produção e consumo deste produto no país tem exigido a ampliação da capacidade de produção de suas principais indústrias, o que aumenta o risco para a vegetação nativa local e regional.

Os impactos da deposição de material particulado sobre a vegetação dependem da sua composição química, estrutural e da intensidade e distância da fonte emissora, bem como da morfologia foliar, do grau de tolerância da planta e do ecossistema, da topografia e das condições climáticas locais, entre outros fatores (Farmer, 1993; Grantz et al., 2003). A sobrevivência de um indivíduo exposto ao material particulado é dependente do seu genótipo, estágio de crescimento, disponibilidade de recursos e microhabitat (Levin, 1998; Grantz et al., 2003), podendo haver danos à fotossíntese, ao acúmulo de biomassa, à nutrição mineral e reprodução (Grantz et al., 2003).

A deposição de poeira nas folhas pode afetar o crescimento e o desenvolvimento das plantas, por meio de efeitos físicos como o bloqueio da luz, abrasão, aquecimento foliar e alterações nas trocas gasosas (Farmer, 1993; Hirano et al., 1995; Grantz et al., 2003; Pereira et al., 2009); ou por efeitos químicos decorrentes da sua entrada no mesófilo, usualmente através dos estômatos ou de fissuras na cutícula (Watmough et al., 1999; Lau e Luk, 2001). A presença do cimento nos tecidos internos contribui para o acúmulo de elementos essenciais e não essenciais à planta (Lau e Luk, 2001), podendo resultar em danos estruturais e metabólicos.

O cálcio (Ca) é o principal componente da poeira emitida pela indústria cimenteira (Lee e Pacyna, 1999; Mandre et al., 1999; Jalkanen et al., 2000; Branquinho et al., 2008; Zhao et al., 2008), estando presente em todos os processos, desde a extração da matéria-prima, o calcário, passando pela produção do clínquer e obtenção do cimento. Conseqüentemente, a poeira

originada destas atividades tem natureza alcalina, representando um aporte adicional de Ca para o ecossistema local, e a introdução de uma nova forma de estresse para a vegetação.

Embora o Ca seja um nutriente essencial para a planta, conferindo resistência e estabilidade às paredes celulares, atuando na estabilização e regulação da permeabilidade das membranas, na extensão e na divisão celular, bem como na modulação de enzimas (Martinez, 2006), a exposição à poeira de cimento tem sido prejudicial às plantas e ao meio ambiente, em geral (Haapala et al., 1996; Mandre et al., 1999; Mandre, 2009), assim como à saúde humana (Abdul-Wahab, 2006; Zeleke et al., 2010; Bertoldi et al., 2012). Vale ressaltar que além da alcalinidade, a poeira originada das atividades de indústrias cimenteiras contém metais pesados (Al-Khashman e Shawabkeh, 2006; Mandre e Ots, 2012), os quais em altas concentrações tornam-se tóxicos (Han et al., 2004; Bhaduri e Fulekar, 2012; Mandre e Ots, 2012).

O teor de Ca na célula vegetal é elevado no apoplasto, no vacúolo e no interior de organelas membranares, enquanto na matriz citoplasmática é extremamente baixo (Gilroy et al., 1993; Bush, 1995; Hawkesford et al., 2012). A manutenção do equilíbrio das concentrações deste elemento nos diferentes componentes da célula vegetal, exige gasto de energia metabólica em sistemas de transporte de íons Ca ou imobilização do excesso na forma de cristais de oxalato de Ca (Franceschi e Nakata, 2005).

Cristais de oxalato de Ca podem ocorrer em todos os tecidos vegetais (Metcalf e Chalk, 1983), entretanto, são mais abundantes nas imediações do sistema vascular, especialmente no floema. Paiva e Machado (2005) atribuíram aos cristais de oxalato de Ca precipitados no floema e suas imediações, a manutenção dos níveis de Ca neste tecido. A quantidade de cristais encontrados nos tecidos vegetais depende, entre outros fatores, da disponibilidade de Ca no substrato (Franceschi e Horner, 1979; Zindler-Frank et al., 2001; Volk et al., 2002; Jáuregui-Zúñiga et al., 2005).

Os resultados obtidos podem subsidiar estratégias de conservação e recuperação de áreas impactadas por indústrias cimenteiras, as quais representam ameaça à biodiversidade local.

## **OBJETIVO GERAL**

Avaliar os impactos da deposição da poeira de cimento na superfície foliar, na organização estrutural da folha, na ultraestrutura celular e em variáveis fisiológicas e bioquímicas de espécies lenhosas nativas, bem como identificar diferenças de respostas entre as espécies.

## OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Indicar o grau de suscetibilidade das espécies à poeira de cimento;
- Identificar os sintomas morfoanatômicos na estrutura foliar, causados pela deposição de poeira de cimento nas espécies vegetais estudadas;
- Avaliar possíveis alterações ultraestruturais na superfície foliar, nas células epidérmicas e no mesófilo de folhas das plantas submetidas ao material particulado alcalino;
- Quantificar e indicar a distribuição de cristais de oxalato de Ca nas folhas em resposta à poeira alcalina;
- Determinar os efeitos do material particulado sobre a composição mineral das folhas e do solo;
- Investigar os efeitos da poeira sobre a fluorescência da clorofila *a*, a condutância estomática, os teores de pigmentos fotossintéticos e a intensidade de bloqueio da densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos;
- Avaliar o impacto da poeira no metabolismo antioxidante enzimático (superóxido dismutase, catalase e ascorbato peroxidase) das folhas;
- Gerar informações que auxiliem no biomonitoramento e na avaliação de risco ecológico em áreas impactadas pela atividade de fabricação de cimento;
- Contribuir com informações a serem utilizadas em programas de conservação e recuperação de áreas impactadas pela indústria cimenteira.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdul-Wahab, S.A., 2006. Impact of fugitive dust emissions from cement plants on nearby communities. *Ecological Modelling* 195, 338-348.
- Al-Khashman, O.A., Shawabkeh, R.A., 2006. Metals distribution in soils around the cement factory in southern Jordan. *Environmental Pollution* 140, 387-394.
- Bertoldi, M., Borgini, A., Tittarelli, A., Fattore, E., Cau, A., Fanelli, R., Crosignani, P., 2012. *Environment International* 41, 1-7.
- Bhaduri, A.M., Fulekar, M.H., 2012. Antioxidant enzyme responses of plants to heavy metal stress. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* 11, 55-69.
- Branquinho, C., Gaio-Oliveira, G., Augusto, S., Pinho, P., Má-Guas, C., Correia, O., 2008. Biomonitoring spatial and temporal impact of atmospheric dust from a cement industry. *Environmental Pollution* 151, 292-299.

- Bush, D.S., 1995. Calcium regulation in plant cells and its role in signaling. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 46, 95-122.
- Demir, T.A., Akar, T., Akyüz, F., Işikli, B., Kanbak, G., 2005. Nickel and cadmium concentrations in plasma and Na<sup>+</sup>/ K<sup>+</sup> ATPase activities in erythrocyte membranes of the people exposed to cement dust emissions. *Environmental Monitoring and Assessment* 104, 437-444.
- Farmer, A.M., 1993. The effects of dust on vegetation – a review. *Environmental Pollution* 79, 63-75.
- Franceschi, V.R., Horner, H.T.Jr., 1979. Use of *Psychotria punctata* callus in study of calcium oxalate crystal idioblast formation. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie* 92, 61-75.
- Franceschi, V.R., Nakata, P.A., 2005. Calcium oxalate in plants: Formation and function. *Annual Review of Plant Biology* 56, 41-71.
- Gilroy, S., Bethke, P.C., Jones, R.L., 1993. Calcium homeostasis in plants. *Journal of Cell Science* 106, 453-461.
- Grantz, D.A., Garner, J.H.B., Johnson, D.W., 2003. Ecological effects of particulate matter. *Environment International* 29, 213-239.
- Haapala, H., Goltsova, N., Pitulko, V., Lodenius, M., 1996. The effects of simultaneous large acidic and alkaline airborne pollutants on forest soil. *Environmental Pollution* 94, 159-168.
- Han, F.X., Maruthi Sridhar, B.B., Monts, D.L., Su, Y., 2004. Phytoavailability and toxicity of trivalent and hexavalent chromium to *Brassica juncea* L. *Czern. New Phytologist* 162, 489-499.
- Hawkesford, M., Horst, W., Kichey, T., Lambers, H., Schjoerring, J., Møller, I.S., White, P., 2012. Functions of macronutrients, in: Marschner, P. (Ed.), *Mineral nutrition of higher plants*, Academic Press, San Diego, pp. 135-189.
- Hirano, T., Kiyota, M., Aiga, I., 1995. Physical effects of dust on leaf physiology of cucumber and kidney bean plants. *Environmental Pollution* 89, 255-261.
- Işikli, B., Demir, T.A., Akar, T., Berber, A., Ürer, S.M., Kalyoncu, C., Canbek, M., 2006. Cadmium exposure from the cement dust emissions: A field study in a rural residence. *Chemosphere* 63, 1546-1552.
- Jalkanen, L., Mäkinen, A., Häsänen, E., Juhanoja, J., 2000. The effect of large anthropogenic particulate emissions on atmospheric aerosols, deposition and bioindicators in the eastern Gulf of Finland region. *Science of the Total Environment* 262, 123-136.
- Jáuregui-Zuñiga, D., Ferrer, M.A., Calderón, A.A., Munõz, R., Moreno, A., 2005. Heavy metal stress reduces the deposition of calcium oxalate crystals in leaves of *Phaseolus vulgaris*. *Journal of Plant Physiology* 162, 1183-1187.

- Lau, O.W., Luk, S.F., 2001. Leaves of *Bauhinia blakeana* as indicators of atmospheric pollution in Hong Kong. *Atmospheric Environment* 35, 3113-3120.
- Lee, D.S., Pacyna, J.M., 1999. An industrial emissions inventory of calcium for Europe. *Atmospheric Environment* 33, 1687-1697.
- Levin, A.S., 1998. Ecosystems and the biosphere as complex adaptive systems. *Ecosystems* 1, 431-436.
- Mandre, M., Klůšeiko, J., Ots, K., Tuulmets, L., 1999. Changes in phytomass and nutrient partitioning in young conifers in extreme alkaline growth conditions. *Environmental Pollution* 105, 209-220.
- Mandre, M., 2009. Vertical gradients of mineral elements in *Pinus sylvestris* crown in alkalised soil. *Environmental Monitoring and Assessment* 159, 111-124.
- Mandre, M., Ots, K., 2012. Monitoring of heavy metals uptake and allocation in *Pinus sylvestris* organs in alkalised soil. *Environmental Monitoring and Assessment* 184, 4105-4117.
- Martinez, H.E.P., 2006. Manual prático de hidroponia, 1º ed. Aprenda Fácil, Viçosa, 271 p.
- Metcalf, C.R., Chalk, L., 1983. *Anatomy of the Dicotyledons*, v. 2, Oxford University Press, New York.
- Paiva, E.A.S., Machado, S.R., 2005. Intermediary cells in *Peltodon radicans* (Lamiaceae): Possible role in the transfer of calcium and formation of calcium oxalate crystals. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 48, 147-153.
- Pereira, E.G., Oliva, M.A., Kuki, K.N., Cambraia, J., 2009. Photosynthetic changes and oxidative stress caused by iron ore dust deposition in the tropical CAM tree *Clusia hilariana*. *Trees – Structure and Function* 23, 277-285.
- Rodrigues, F.A., Joekes, I., 2011. Cement industry: sustainability, challenges and perspectives. *Environmental Chemistry Letters* 9, 151-166.
- Sindicato Nacional da Indústria do Cimento - SNIC, 2013. Relatório anual de 2012. Disponível em: <<http://www.snic.org.br>>. Acesso em: 02 nov. 2013.
- Volk, G.M., Lynch-Holm, V.J., Kostman, T.A., Goss, L.J., Franceschi, V.R., 2002. The role of druse and raphide calcium oxalate crystals in tissue calcium regulation in *Pistia stratiotes* leaves. *Plant Biology* 4, 34-45.
- Watmough, S.A., Hutchinson, T.C., Evans, R.D., 1999. The distribution of <sup>67</sup>Zn and <sup>207</sup>Pb applied to white spruce foliage at ambient concentrations under different pH regimes. *Environmental and Experimental Botany* 41, 83-92.
- Zelege, Z.K., Moen, B.E., Bråtveit, M., 2010. Cement dust exposure and acute lung function: A cross shift study. *BMC Pulmonary Medicine* 10, 1-8.



Zhao, Z., Tian, L., Fischer, E., Li, Z., Jiao, K., 2008. Study of chemical composition of precipitation at an alpine site and a rural site in the Urumqi river valley, Eastern Tien Shan, China. *Atmospheric Environment* 42, 8934-8942.

Zindler-Frank, E., Honow, R., Hesse, A., 2001. Calcium and oxalate content of the leaves of *Phaseolus vulgaris* at different calcium supply in relation to calcium oxalate crystal formation. *Journal of Plant Physiology* 158, 139-144.

## CAPÍTULO I

### *Cedrela fissilis* Vell. (Meliaceae), espécie lenhosa nativa sensível à poeira de cimento

#### RESUMO

A atividade industrial para produção de cimento e consequente emissão de material particulado impacta e ameaça a vegetação no entorno das unidades fabris, principalmente em áreas de afloramentos calcários. Desta forma, objetivou-se avaliar os impactos da deposição de poeira de cimento na organização estrutural, ultraestrutural e em variáveis fisiológicas e bioquímicas dos folíolos de *Cedrela fissilis* Vell., espécie lenhosa nativa de Minas Gerais, Brasil, comumente encontrada nestas áreas. O experimento foi conduzido em casa de vegetação e as plantas foram expostas às concentrações de 0; 2,5 e 5 mg cm<sup>-2</sup> de material particulado de cimento aplicadas em dois momentos sobre a superfície foliar; sobre o solo e sobre a superfície foliar e solo, em condições de exposição controlada e solo padronizado. Nas plantas que receberam a poeira de cimento na parte aérea houve clorose foliar, necrose marginal e internerval, redução da espessura da lâmina foliar, perda da turgidez das células epidérmicas, colapso celular, obstrução dos estômatos, senescência, enrolamento e abscisão foliar, além de morte de algumas plantas. Houve redução de pigmentos fotossintéticos, alteração na composição mineral das folhas, com elevação dos teores de cálcio (Ca) e redução dos teores de ferro (Fe), sem incremento no número de cristais prismáticos. O cimento ao entrar em contato com a superfície foliar formou uma crosta e bloqueou 30 a 48% da luz incidente, além de reduzir a condutância estomática e o rendimento quântico potencial do fotossistema II. Nas plantas dos tratamentos controle e solo não foram verificadas alterações morfofisiológicas ao longo do experimento. As atividades das enzimas superóxido dismutase, catalase e ascorbato peroxidase foram aumentadas quando aplicado a concentração de 2,5 mg cm<sup>-2</sup> de cimento, independente do local de deposição. Os resultados encontrados para *C. fissilis* indicaram grande sensibilidade desta espécie à poeira de cimento.

**Palavras-chave:** Poluição, estresse, interação planta-ambiente, afloramentos calcários.

## ***Cedrela fissilis* Vell. (Meliaceae), native woody species susceptible to cement dust**

### **ABSTRACT**

The industrial activity for the production of cement and consequent emission of particulate matter impacts and threatens the vegetation surrounding the manufacturing facilities, especially in areas of limestone outcrops. Thus, there have been evaluated the impacts of deposition of cement dust on the structural organization, ultrastructural and in physiological and biochemical variables of leaflets *Cedrela fissilis* Vell., native woody species from Minas Gerais, Brazil, commonly found in these areas. The experiment was performed in a greenhouse and the plants were exposed to concentrations of 0; 2.5 and 5 mg cm<sup>-2</sup> of cement particulate matter applied at two moments on the leaf surface; on the soil and the leaf surface and soil, in controlled exposure conditions and standardized soil. In plants treated with cement dust on the plant shoot there was leaf chlorosis, marginal and internerval necrosis, reduction of the leaf blade thickness, turgor loss of epidermal cells, cell collapse, stomatal obstruction, senescence, leaf curling and fall off, besides death of some plants. There has been a reduction of photosynthetic pigments, changes in mineral composition of leaves with increased calcium (Ca) and reduced iron (Fe) contents, without increase in the number of prismatic crystals. The cement on contact with the leaf surface has formed a crust and blocked 30-48% of the incident light, besides reducing stomatal conductance and the potential quantum yield of photosystem II. In plants of the control treatment and soil morphological and physiological changes were not observed during the experiment. The enzymes activities of superoxide dismutase, catalase and ascorbate peroxidase were increased when applied concentration of 2.5 mg cm<sup>-2</sup> of cement, regardless of the site of deposition. The results for *C. fissilis* showed great susceptibility of this species to cement dust.

**Keywords:** Pollution, stress, plant-environment interaction, limestone outcrops.

## 1. Introdução

A indústria cimenteira é uma das principais fontes de material particulado (Grantz et al., 2003; Demir et al., 2005; Işikli et al., 2006; Rodrigues e Joekes, 2011), o qual pode afetar o crescimento e o desenvolvimento das plantas, por meio de efeitos físicos como o bloqueio da radiação luminosa, abrasão, aquecimento foliar, alterações na condutância estomática e nos processos fotossintéticos e transpiratórios (Farmer, 1993; Hirano et al., 1995; Grantz et al., 2003; Pereira et al., 2009). Há, ainda, efeitos diretos decorrentes da assimilação foliar através dos estômatos ou de fissuras na cutícula (Watmough et al., 1999; Lau e Luk, 2001; Eichert e Fernández, 2012), levando ao acúmulo, nos tecidos foliares, de elementos essenciais e não essenciais à planta (Lau e Luk, 2001).

Estudos têm indicado uma variação nas respostas das enzimas do sistema antioxidante (superóxido dismutase, catalase e peroxidase, entre outras) das plantas frente à poeira de cimento, ora tendo suas atividades estimuladas, ora não, dependendo da espécie selecionada (Erdal e Demirtas, 2010; Dziri e Hosni, 2012).

Durante o processo de fabricação de cimento, grande quantidade de material em suspensão é lançada na atmosfera em quase todos os estágios da produção, desde a extração da principal matéria-prima, o calcário, até a finalização do processo com a embalagem e expedição do cimento (Abdul-Wahab et al., 2005; Abdul-Wahab, 2006; Mwaiselage et al., 2006). O cálcio (Ca) é o principal componente desta poeira (Lee e Pacyna, 1999; Mandre et al., 1999; Jalkanen et al., 2000; Branquinho et al., 2008; Zhao et al., 2008), a qual além de apresentar natureza alcalina, contém metais pesados em sua composição (Al-Khashman e Shawabkeh, 2006; Mandre e Ots, 2012).

A exposição à poeira de cimento tem sido prejudicial às plantas (Haapala et al., 1996; Mandre et al., 1999; Mandre, 2009). Em *Pinus halepensis* Mill. ocorrendo em área próxima à indústria cimenteira foi constatado grande quantidade de Ca na superfície foliar, formando crostas, além de erosões na camada de ceras epicuticulares e obliteração dos estômatos (Bačić et al., 1999). Outros estudos relataram, ainda, redução nos teores de clorofila das folhas (Mandre e Tuulmets, 1997; Nanos e Ilias, 2007), bem como redução nas taxas de crescimento vegetativo e reprodutivo, perda de turgescência, clorose, necrose e senescência foliar, entre outros (Farmer, 1993).

Nos vegetais, o Ca confere resistência e estabilidade às paredes celulares, atua na extensão celular, em processos secretores como a formação de calose em resposta a injúrias, na estabilidade das membranas e integridade celular, na osmorregulação celular, no balanço

entre cátions e ânions, e como mensageiro secundário (Hawkesford et al., 2012). Embora o Ca seja um nutriente essencial para as plantas, a sua concentração citosólica deve ser mantida baixa, pois o excesso de Ca pode ser fitotóxico (White e Broadley, 2003; Hawkesford et al., 2012).

Muitas espécies arbóreas são sensíveis à alcalinização do solo e ao contato de sua parte aérea com o material particulado alcalino (Farmer, 1993; Mandre et al., 2012), havendo grande variabilidade em suas respostas, assim como controvérsias na literatura acerca da magnitude do impacto deste tipo de poeira (Mandre e Lukjanova, 2011). *Cedrela fissilis* Vell. é uma espécie lenhosa nativa que ocorre em áreas adjacentes às indústrias cimenteiras. Trata-se de uma espécie caducifólia, com folha composta paripinada e folíolos pubescentes, que apresenta ampla distribuição na América do Sul e na Costa Rica (Pennington et al., 1981). Ao longo dos anos tem ocorrido exploração comercial de sua madeira (Dornelas e Rodriguez, 2006; Garcia et al., 2011) e por estar distribuída em áreas exploradas por indústrias cimenteiras pode estar ameaçada nestes locais, assim como outras espécies vegetais.

Os objetivos deste estudo foram avaliar as respostas morfofisiológicas e bioquímicas de *C. fissilis* à poeira de cimento, bem como estimar a sua sobrevivência e possibilidade de emprego na revegetação de áreas próximas às indústrias cimenteiras.

## **2. Material e métodos**

### **2.1. Cultivo das plantas**

O experimento foi conduzido na casa de vegetação do Departamento de Botânica, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brasil (826 m de altitude, 19°52'09,3" S e 43°58'00" O).

*Cedrela fissilis* Vell. (Meliaceae) foi a espécie lenhosa estudada. As razões para sua escolha se basearam na sua facilidade de cultivo, no crescimento rápido, por ser nativa do estado de Minas Gerais, Brasil, e por ocorrer em áreas de afloramentos calcários, principais locais de exploração das indústrias cimenteiras.

Sementes de *C. fissilis* foram coletadas de matrizes cultivadas no campus Pampulha, UFMG, Belo Horizonte, MG (853 m de altitude, 19°51'47,3" S e 43°58'00,2" O). Uma exsiccata da espécie foi depositada no Herbário BHCB, UFMG, MG, sob o número 49.391. A semeadura foi realizada em bandejas plásticas (dimensões 440 x 300 x 90 mm), contendo como substrato uma mistura de solo e composto orgânico (1:1). Após 45 dias da semeadura, as plantas foram

transplantadas para vasos de polipropileno (5 L), contendo o mesmo substrato inicial. Nestes vasos, foi cultivada uma planta por vaso durante seis meses, momento em que se procedeu o início do experimento de deposição da poeira de cimento.

O cultivo das plantas até o término do experimento foi realizado em ambiente protegido localizado no entorno das estufas da casa de vegetação. O solo foi irrigado quando necessário, em média a cada dois dias, desde a semeadura até a finalização do experimento.

## **2.2. Aplicação da poeira de cimento**

Os tratamentos consistiram da exposição das plantas a diferentes concentrações de cimento comercial Portland CPII32 (Argos) aplicado sobre a superfície foliar (Folha), sobre o solo (Solo) e sobre a superfície foliar e solo (Folha/Solo), a saber: 0; 2,5 e 5 mg cm<sup>-2</sup> de material particulado de cimento. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com quatro repetições para cada combinação de fatorial (3 x 3), três concentrações de cimento e três locais de deposição.

A quantidade de cimento aplicada nas plantas foi determinada com base na deposição observada na superfície foliar de plantas expostas à poeira alcalina, nas imediações de uma indústria cimenteira em pleno funcionamento no Quadrilátero Ferrífero de Minas Gerais, Brasil.

Nos tratamentos que receberam a poeira alcalina sobre o solo (2,5 e 5 mg cm<sup>-2</sup> Solo), esta foi aplicada manualmente, evitando o seu contato com a parte aérea da planta. Para os demais tratamentos (2,5 e 5 mg cm<sup>-2</sup> Folha e Folha/Solo), foi utilizado uma câmara que simula a deposição natural de material sólido particulado, conforme modelo proposto por Hirano et al. (1995), com algumas modificações na confecção de sua estrutura. A câmara de deposição da poeira de cimento consistiu de uma estante revestida de vidro e polipropileno conectada a um sistema de formação, homogeneização e dispersão da poeira (Figura 1). A superfície do solo das plantas que receberam a poeira somente na parte aérea foi revestida com tampa plástica e filme de polietileno durante todo o experimento, de forma a evitar a sua contaminação.

Durante todo o experimento, foram feitas duas aplicações de cimento, uma no início do experimento e outra após 22 dias. A reposição de cimento aos 22 dias foi importante para cobrir os folíolos que desenvolveram após a 1ª aplicação, assim como recompor possíveis perdas do mesmo. Em ambas aplicações, foram adotadas as mesmas condições experimentais e concentrações de material particulado.

As deposições simuladas foram realizadas no período de 9:00 a 12:00 hs (intervalo em que a espécie apresentava alta condutância estomática), sob condições de luz natural e de forma a cobrir toda a extensão das folhas e do solo. Após a aplicação do material particulado e a cada cinco dias, foi feita pulverização manual da parte aérea e do solo com água desionizada.

As plantas foram distribuídas no interior de duas estantes a 70 cm do solo, cobertas com tela de nylon branca (Mesh 14 Fio 0,30 mm) em toda sua extensão, e no teto por um filme fino transparente de polipropileno, os quais bloquearam cerca de 18% da luz incidente (ambiente externo com irradiância máxima de  $1575 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). A cobertura e separação espacial dos tratamentos nestas estantes foram necessárias para evitar a retirada total do cimento pelas chuvas e ventos, bem como evitar a contaminação dos tratamentos controle e Solo.

O experimento foi encerrado aos 41 dias, após as plantas apresentarem sintomas visíveis e acelerada senescência com indução à morte.

### **2.3. Quantificação do material particulado depositado na superfície foliar**

Ao final do experimento, foi quantificada a deposição do material particulado de cimento na superfície foliar utilizando metodologia proposta por Kuki et al. (2008). Para tal, cinco folíolos do 2º nó foram coletados aleatoriamente em cada planta, sendo amostradas cinco plantas escolhidas nos tratamentos de  $2,5 \text{ mg cm}^{-2}$  Folha e Folha/Solo, e cinco plantas nos tratamentos de  $5 \text{ mg cm}^{-2}$  Folha e Folha/Solo. Por se tratar de um método destrutivo, optou-se por realizar esta quantificação somente ao término do experimento, sendo as áreas dos folíolos mensuradas pelo software AxioVision 4.9.1, Carl Zeiss MicroImaging GmbH, Jena, Deutschland.

### **2.4. Teores de nutrientes nas folhas e composição química do solo e cimento**

Ao término do experimento, as folhas foram submetidas à lavagem em água corrente com auxílio de um pincel, visando a remoção do cimento depositado na superfície. Em seguida, foram secas à  $75 \text{ }^\circ\text{C}$  até atingirem peso constante, e processadas em moinho tipo Willye (modelo TE648, Tecnal Equipamentos para Laboratório Ltda, São Paulo). Após secas e moídas, 0,5 g do material vegetal foi digerido em 10 mL de solução nítrico-perclórica (3:1), seguindo metodologia proposta por Tedesco et al. (1995).

A composição química do material particulado foi determinada por amostragens de cimento retiradas diretamente da embalagem intacta proveniente do fabricante, após digestão em solução nítrico-perclórica.

A análise da fertilidade do solo de todos os tratamentos foi determinada por amostra composta e seguiu metodologias propostas por Defelipo e Ribeiro (1981) e Embrapa (1997).

Os teores de Zn, Fe, Mn, Cu, Ca e Mg foram determinados por espectrômetro de absorção atômica (modelo SpectrAA-20, Varian, Victoria, Austrália). O conteúdo de K foi determinado por fotometria de chama (modelo B 462, Micronal, São Paulo, Brasil). A quantificação de nitrogênio total foi determinada por titulação após digestão de 0,25 g do material vegetal seco em 5 mL de mistura digestora (175 mL de água destilada; 3,6 g de selenito de sódio; 21,39 g de sulfato de sódio; 4 g de sulfato de cobre pentahidratado e 200 mL de ácido sulfúrico concentrado) e destilação em microdestilador Kjeldahl, conforme metodologia proposta por Malavolta et al. (1997). Os teores de B, P e S foram determinados em espectrofotômetro digital (modelo E 225D, Celm, São Paulo Brasil). O pH foi determinado em água (1:2,5) através de um pHmetro digital microprocessado (modelo AJX 511, Micronal, São Paulo, Brasil).

## **2.5. Microscopia de luz**

Ao final do experimento, amostras de folíolos totalmente expandidos do 2º nó, desenvolvidos após aplicação dos tratamentos e aparentemente saudáveis, foram fixados em solução de Karnovsky (Karnovsky, 1965) por 24 horas, após lavagem prévia em água desionizada para remoção do cimento depositado na superfície foliar. Posteriormente, as amostras foram desidratadas em série etílica e incluídas em historresina Leica (Leica Microsystems Inc., Heidelberg, Germany), de acordo com recomendações do fabricante. Secções transversais (5 µm) foram obtidas em micrótomo rotativo, coradas em azul de toluidina 0,05%, pH 6,8 em tampão fosfato 0,1 M (O'Brien et al., 1964), contrastadas em solução de vermelho de rutênio 0,2% (Chamberlain, 1932) e montadas em Entellan®. A documentação fotográfica foi feita em fotomicroscópio (modelo BX41 TF, Olympus Optical, Tokyo, Japão) equipado com uma câmera de captura de imagens (modelo SC 30, Olympus Soft Imaging Solutions GmbH, Munster, Germany).

A densidade de cristais prismáticos por mm<sup>2</sup> nos folíolos do 2º nó foi também determinada ao término do experimento, com auxílio de câmara clara acoplada a um



microscópio (modelo CH30 RF100, Olympus Optical, Tokyo, Japão). Previamente à contagem utilizando luz polarizada, fragmentos foliares foram clarificados em solução de hipoclorito de sódio (0,5%) por um período de 24 a 48 horas, e montados em gelatina glicerinada. Nos tratamentos (n = 4) foram quantificados três campos por repetição, e nos tratamentos (n = 3) foram quantificados quatro campos por repetição, totalizando 12 campos por tratamento, com área individual de 0,0459 mm<sup>2</sup>, escolhidos na lâmina foliar.

## **2.6. Microscopia eletrônica de varredura e transmissão**

Ao término do experimento de simulação, amostras de folíolos totalmente expandidos do 2º nó, desenvolvidos após aplicação dos tratamentos e aparentemente saudáveis, foram também coletadas para as análises ultraestruturais. Para as análises da superfície foliar, os fragmentos sem lavagem prévia da poeira foram fixados em solução de Karnovsky por 24 horas, desidratados em série etílica e secos ao ponto crítico com CO<sub>2</sub> em equipamento (modelo CPD 030, Bal-Tec, Liechtenstein). Após secagem foram afixados a um suporte de alumínio e metalizados com ouro (modelo MED 020, Bal-Tec, Liechtenstein) para posterior análise em microscópio eletrônico de varredura (modelo Quanta 200, FEI Company, Eindhoven, Netherlands), a 15-20 kV.

Para as análises em microscopia eletrônica de transmissão as amostras foram lavadas em água desionizada para remoção do cimento depositado na superfície foliar, fixadas em solução de Karnovsky por 24 horas, pós-fixadas em tetróxido de ósmio (1%, tampão fosfato 0,1 M, pH 7,2) e processadas segundo métodos usuais (Roland, 1978). As secções ultrafinas foram contrastadas com acetato de uranila e citrato de chumbo e examinadas ao microscópio eletrônico de transmissão (modelo Tecnai G2-12 Spirit BioTWIN, FEI Company, Eindhoven, Netherlands), a 120 kV.

## **2.7. Variáveis fotossintéticas**

Para as análises das alterações fotossintéticas em resposta à poeira de cimento foram utilizados folíolos totalmente expandidos do 5º nó, com aparência sadia. Duas horas de antecedência às medições de fluorescência da clorofila *a*, nas plantas dos tratamentos (Folha e Folha/Solo) que receberam a poeira de cimento na parte aérea, foi feita a limpeza da superfície foliar com pincel de cerdas macias. Nos demais tratamentos (Controle e Solo) foi também adotado o mesmo procedimento de limpeza dos folíolos previamente às medições. O

rendimento quântico potencial do fotossistema II ( $F_v/F_m$ ) foi determinado no período da manhã (11:00-12:00 hs), após 41 dias do início do experimento de deposição. Após 60 minutos de adaptação prévia dos folíolos ao escuro, foram efetuadas as medições utilizando um fluorômetro portátil de pulso modulado (modelo MINI-PAM, Walz, Effeltrich, Germany).

A condutância estomática ( $g_s$ ) foi determinada no período da manhã (10:00-11:00 hs) a partir do décimo dia do início do experimento de simulação, em folíolos aparentemente saudáveis com (tratamentos Folha e Folha/Solo) e sem (tratamentos Controle e Solo) depósito de cimento na superfície foliar, utilizando um porômetro (modelo AP4, Delta-T Devices Ltd, Cambridge, UK). Os folíolos não foram limpos previamente às medições, simulando as condições dos estômatos no ambiente natural impactado.

Ao longo do experimento, o índice SPAD foi avaliado nos mesmos folíolos das medições de fluorescência. Trinta minutos anteriores às medições (9:00-10:00 hs), foi feita a limpeza do cimento contido na superfície foliar, com o auxílio de um pincel. Em seguida, foram realizadas três medições em cada folíolo, através de um medidor portátil de clorofila não destrutivo (modelo SPAD-502, Minolta, Japão).

Após 41 dias do início da simulação de deposição da poeira, os folíolos foram coletados e lavados em água desionizada, para avaliação dos teores de clorofila *a* (Chl *a*), clorofila *b* (Chl *b*) e carotenoides, através de método destrutivo, segundo metodologia de Barros et al. (2012), com modificações. Três discos foliares, com 0,5 cm<sup>2</sup> cada, foram coletados por planta, sendo pesados e imersos em 5 mL de acetona a 80% no interior de vidro âmbar. Em seguida, os vidros foram envoltos com papel alumínio e armazenados por uma semana em geladeira à 5 °C. Passado esse período no extrator, os discos foram macerados em nitrogênio líquido, seguido de uma segunda extração do pellet em 5 mL de acetona a 80%. Após a centrifugação por cinco minutos a 10.000 x g, dos dois extratos combinados, foi feita a leitura em espectrofotômetro (modelo Genesys 10 UV, Thermo Spectronic, Rochester, New York, USA) da absorbância (663, 646 e 470 nm) do sobrenadante obtido, e quantificação através de equações de Lichtenthaler e Wellburn (1983).

Ao final do experimento, a intensidade de bloqueio da densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (PPFD) pela poeira de cimento foi avaliada em folíolos com deposição particulada (0; 2,5 e 5 mg.cm<sup>-2</sup> de cimento) e após a limpeza do cimento com pincel seco. Para tal, foi usado um sensor quântico (modelo LI-189, LI-COR, Lincoln, NE, USA) e metodologia proposta por Lemos Filho e Paiva (2006).

## 2.8. Atividade enzimática

Para a medida da atividade enzimática do sistema antioxidante foram usados folíolos totalmente expandidos do 5º nó, aparentemente sadios. Ao término do experimento, os folíolos foram lavados em água desionizada e envoltos em papel toalha para a remoção do excesso de umidade, antes de serem pesados. Em seguida, foram congelados em nitrogênio líquido e armazenados em freezer (-80 °C) até o início dos testes enzimáticos.

Amostras foliares congeladas (0,2 g) foram trituradas em almofariz na presença de nitrogênio líquido e 20 mg de polivinilpolipirrolidona. O homogenato celular foi obtido a partir da adição de 666 µL de tampão fosfato de sódio (pH 6,8) 0,05 M contendo 100 µM de EDTA e coquetel inibidor de protease (Sigma). O homogenato obtido foi centrifugado a 10.000 x g por 15 minutos à 4 °C e o sobrenadante foi utilizado para determinar a atividade de algumas enzimas do sistema antioxidante por meio de medidas espectrofotométricas usando um leitor de microplaca (Multiskan Spectrum, modelo 1500, Thermo Fisher Scientific Oy, Vantaa, Finland). As atividades enzimáticas foram expressas em função do conteúdo de proteína total, determinado segundo o método de Bradford (1976).

A atividade da superóxido dismutase (SOD; EC 1.15.1.1) foi avaliada seguindo metodologia proposta por Del Longo et al., (1993), com modificação na concentração de EDTA (100 µM). A atividade da SOD foi calculada pela quantidade de enzima necessária para inibir em 50% a fotoredução do azul de *p*-nitro tetrazólio (NBT), a 575 nm.

A atividade da catalase (CAT; EC 1.11.1.6) seguiu metodologia proposta por Havir e McHale (1987), com modificação no tampão fosfato de sódio (pH 6,8).

A atividade da ascorbato peroxidase (APX; EC 1.11.1.11) foi avaliada de acordo com Nakano e Asada (1981), com modificações. O tampão base da APX continha tampão fosfato de sódio (pH 6,0), 1 mM de ácido ascórbico e 2 mM de peróxido de hidrogênio. As atividades da CAT e APX foram determinadas pela alteração na absorbância a 240 e 290 nm, devido à redução de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e oxidação do ácido ascórbico, respectivamente.

## 2.9. Análise estatística

O experimento seguiu um delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições para cada combinação de fatorial (3x3), três concentrações de material particulado de cimento e três locais de deposição da poeira. Os dados obtidos foram submetidos à análise

de variância (ANOVA), e as médias foram comparadas pelo teste de Newman-Keuls a 5% de probabilidade, usando o software Statística 7.0, StatSoft South America, São Paulo, Brasil. As regressões foram feitas no programa Sigma Plot 11.0, Systat Software, Inc., Califórnia, USA.

### **3. Resultados**

#### **3.1. Quantificação de material particulado de cimento na superfície foliar**

Ao final do experimento, as concentrações de material particulado de cimento na superfície foliar foram de 3,6 e 4,4 mg cm<sup>-2</sup>, em relação às concentrações nominais de 2,5 e 5 mg cm<sup>-2</sup>, respectivamente.

#### **3.2. Quantificação de nutrientes nas folhas e composição química do solo e cimento**

O Ca foi o elemento químico predominante na poeira de cimento (43%), a qual apresentou pH elevado 13,2 (Tabela 1). O material particulado também apresentou em sua composição química os seguintes elementos minerais: Fe, B, Mn, Zn, Cu, K, Mg, P e S, com destaque para os elementos Fe e Mn, os quais apresentaram as maiores concentrações entre os micronutrientes.

Ao final do experimento de alcalinização, os resultados das análises do solo mostraram similaridade nos valores de pH e nas concentrações de nutrientes entre os diferentes tratamentos (Tabela 2).

A exposição à poeira de cimento causou alteração na composição mineral (N, Ca, Mg, S, Fe, B, Mn, Zn e Cu) dos folíolos, com exceção para os elementos K e P (Tabela 3). Houve interação significativa entre concentração x local para os elementos N, Fe e Cu. Na concentração máxima de poeira houve redução do teor foliar de N nas plantas do tratamento Folha. Nesta concentração houve também redução dos teores foliares de B e Cu, independente do local de aplicação. Após a aplicação do material particulado nas plantas dos tratamentos Folha e Folha/Solo foi observada redução no teor foliar de Fe.

O contato com a poeira promoveu incremento foliar nos teores de Ca e Mg, independente do local de aplicação do cimento. A poeira também elevou o teor foliar de Mn, com destaque para as plantas do tratamento Folha, e ao ser depositada nas plantas do tratamento Solo, promoveu aumento nos teores foliares de S e Zn, em relação aos demais locais de aplicação (Tabela 3).

### 3.3. Variáveis morfoanatômicas

Em *C. fissilis*, a poeira de cimento aplicada nas concentrações de 2,5 e 5 mg cm<sup>-2</sup> promoveu injúrias foliares nas plantas dos tratamentos Folha (Fig. 2B e C) e Folha/Solo, sendo que o mesmo não foi observado nos tratamentos controle (Fig. 2A) e Solo nas duas concentrações estudadas. Os sintomas iniciaram cerca de duas semanas após a 1ª aplicação da poeira e foram caracterizados primeiramente por clorose, seguida de necrose marginal e internerval na porção apical, com enrolamento da lâmina foliar no sentido da face adaxial do folíolo (Fig. 2B e C). Após 25 dias houve início de senescência e abscisão foliar, resultando, em alguns casos, na morte de plantas dos tratamentos que receberam o material particulado somente na parte aérea.

*C. fissilis* tem folíolo dorsiventral e hipostomático, com mesofilo heterogêneo formado por uma camada de parênquima paliçádico e três a cinco camadas de parênquima lacunoso (Fig. 3A, C e E). Após exposição ao material particulado de cimento, a lâmina foliar apresentou necrose em células epidérmicas e do mesofilo (Fig. 3B, D, F e H) das plantas dos tratamentos Folha e Folha/Solo, em ambas as concentrações. Em determinadas regiões houve ruptura e colapso destas células, resultando em redução na espessura da lâmina foliar (Fig. 3B, D, F e H). Na lâmina foliar das plantas do tratamento 5 mg cm<sup>-2</sup> Folha, houve alteração no padrão de diferenciação dos tecidos (Fig. 3H). Não foram observados danos estruturais nos folíolos do tratamento Solo (Fig. 3G), em ambas as concentrações utilizadas.

*C. fissilis* apresentou drusas distribuídas preferencialmente na nervura mediana e cristais prismáticos nas nervuras laterais. Após exposição das plantas aos tratamentos com poeira de cimento não foram observadas diferenças estatísticas significativas quanto ao número de cristais prismáticos presentes em seus folíolos (Fig. 4).

Análises ultraestruturais indicaram que a superfície foliar e os estômatos das plantas controle apresentaram-se íntegros (Fig. 5A e C), ao contrário do observado nas plantas que receberam o cimento na parte aérea (Fig. 5B e D). Houve perda da turgidez das células epidérmicas (Fig. 5B), obliteração do poro estomático e alteração no aspecto da crista estomática (Fig. 5D) nos tratamentos em que a poeira entrou em contato com a superfície foliar, quando comparados com as plantas do tratamento controle (Fig. 5A e C).

A ultraestrutura dos plastídios de *C. fissilis* não evidenciou sinais de desorganização no sistema de membranas, o qual apresentou tilacóides intactos e estroma uniforme e com aspecto normal (Fig. 6 A-C).

Nas análises de ultraestrutura foliar observou-se nos plastídios das plantas do tratamento controle uma tendência de concentrarem grãos de amido em detrimento de plastoglobulos, em oposição aos demais tratamentos.

### 3.4. Variáveis fisiológicas

A deposição de poeira de cimento sobre os folíolos de *C. fissilis* do tratamento Folha causou redução nos teores de clorofila *a*, *b* e clorofila total, quando comparados aos demais locais de aplicação (Tabela 4). Influência significativa da concentração e do local de deposição da poeira, sem interação entre estes fatores, foi observada para os teores de carotenoides e razão clorofila *a/b* (Tabela 4). Ambas as concentrações de cimento proporcionaram diminuição na razão clorofila *a/b* em folíolos. Na concentração máxima de material particulado ocorreu decréscimo de 6% no rendimento quântico potencial do PSII (Fv/Fm) em comparação com as plantas controle (Tabela 4). Nas plantas do tratamento Folha houve redução de 7,5% no valor de Fv/Fm em relação às plantas do tratamento Solo.

Em ambas as aplicações de cimento na parte aérea da planta, nos tratamentos Folha e Folha/Solo houve fechamento estomático nos primeiros dias, com destaque para a 1ª aplicação que conferiu menor condutância estomática ( $g_s$ ) em relação às plantas controle (Fig. 7A e C). Ao longo do experimento, houve variação na  $g_s$  de todos os tratamentos, sendo que após 30 dias ocorreu queda acentuada no seu valor quando comparado às plantas controle, com exceção para o tratamento 2,5 mg cm<sup>-2</sup> Solo (Fig. 7A-C).

Após 30 dias do início dos experimentos, ocorreu decréscimo no índice foliar de SPAD quando o material particulado foi aplicado no tratamento Folha, independente da concentração de poeira utilizada (Fig. 8A). O mesmo não foi observado nos tratamentos Solo e Folha/Solo (Fig. 8B e C).

Nos folíolos que receberam deposição da poeira de cimento houve formação de uma crosta e bloqueio de 30 e 48% da luz incidente nas concentrações de 2,5 e 5 mg cm<sup>-2</sup> de material particulado, respectivamente (Fig. 9). A luz transmitida através da lâmina foliar de *C. fissilis* aumentou significativamente quando a poeira foi removida dos folíolos, e o seu valor foi similar àqueles observados nas plantas controle (Dados não mostrados).

### 3.5. Variáveis bioquímicas

As atividades das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX) foram significativamente maiores em folíolos de plantas submetidas à concentração de 2,5 mg cm<sup>-2</sup> de cimento, quando comparadas às plantas controle, independentemente do local de aplicação da poeira de cimento (Tabela 5). Assim, folíolos tratados com cimento a 2,5 mg cm<sup>-2</sup> apresentaram atividade SOD 3,3 vezes maior que os folíolos de plantas controle, enquanto que as atividades CAT e APX aumentaram 2,4 e 2,7 vezes, respectivamente. O mesmo não foi observado na concentração máxima de cimento a qual teve sua atividade enzimática igualada às demais concentrações utilizadas (Tabela 5).

Tabela 1. Composição química do material particulado de cimento usado no experimento.

Elemento mineral											
g kg <sup>-1</sup>						mg kg <sup>-1</sup>					pH
N	K	Ca	Mg	P	S	Fe	B	Mn	Zn	Cu	H <sub>2</sub> O
n.d.	5,6	435,6	24,9	0,7	7,2	10.478,0	19,7	2.651,0	40,0	14,0	13,2

(n.d.) Não detectado.



Tabela 2. Características químicas do solo (0-5 cm de profundidade) no início e ao final do experimento de deposição particulada de cimento.

Características Químicas	Solo inicial	Tratamentos (solo após 41 dias de experimento)						
		0 mg cm <sup>-2</sup>			2,5 mg cm <sup>-2</sup>			5 mg cm <sup>-2</sup>
		Controle	Folha	Solo	Folha/Solo	Folha	Solo	Folha/Solo
pH H <sub>2</sub> O	6,7	7,3	7,1	7,3	7,6	7,3	7,5	7,7
P (mg dm <sup>-3</sup> )	55,3	59,9	46,4	46,4	53,0	53,0	55,3	62,3
K (mg dm <sup>-3</sup> )	180,0	140,0	101,0	130,0	150,0	94,0	120,0	155,0
Ca <sup>+2</sup> (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	9,0	10,0	10,5	9,8	11,3	10,2	11,6	11,9
Mg <sup>+2</sup> (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	1,5	1,6	1,5	1,5	1,6	1,5	1,6	1,7
Al <sup>+3</sup> (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
H+Al (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	2,1	1,0	0,7	0,5	0,5	1,0	0,2	0,5
SB (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	12,5	12,0	12,3	11,6	13,3	11,9	13,5	14,0
CTC <sub>t</sub> (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	12,5	12,0	12,3	11,6	13,3	11,9	13,5	14,0
CTC <sub>T</sub> (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	14,6	12,9	12,9	12,1	13,8	12,9	13,7	14,5
V (%)	85,0	92,0	95,0	96,0	96,0	92,0	99,0	97,0
m (%)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
MO (%)	7,3	8,1	7,3	7,3	7,3	8,1	7,7	9,2
P-rem (mg L <sup>-1</sup> )	38,2	53,0	50,8	53,0	48,6	55,3	50,8	48,6
Zn (mg dm <sup>-3</sup> )	12,2	10,6	11,9	11,1	13,3	12,7	12,5	14,6
Fe (mg dm <sup>-3</sup> )	49,5	12,5	12,8	14,8	16,4	13,9	17,9	18,1
Mn (mg dm <sup>-3</sup> )	58,3	42,0	44,9	46,8	49,7	43,0	53,5	59,3
Cu (mg dm <sup>-3</sup> )	0,5	0,4	0,4	0,5	0,6	0,5	0,5	0,5
B (mg dm <sup>-3</sup> )	1,5	0,7	0,2	0,2	0,5	0,3	0,7	0,9
S (mg dm <sup>-3</sup> )	45,5	45,5	37,5	42,2	47,2	37,5	48,9	54,3

Amostras compostas (n = 4). Legenda: (SB) soma de bases trocáveis, (CTC<sub>t</sub>) capacidade de troca catiônica efetiva, (CTC<sub>T</sub>) capacidade de troca catiônica a pH 7,0; (V) índice de saturação de bases, (m) índice de saturação de alumínio, (MO) matéria orgânica, (P-rem) fósforo remanescente e (n.d.) não detectado.

Tabela 3. Teores de elementos minerais na matéria seca dos folíolos de *Cedrela fissilis*, após 41 dias de exposição a diferentes concentrações de material particulado de cimento, aplicadas sobre a superfície foliar (Folha); sobre o solo (Solo) e sobre a superfície foliar e solo (Folha/Solo).

Concentração (mg cm <sup>-2</sup> )	Local	N g kg <sup>-1</sup>	K	Ca	Mg	P	S	Fe mg kg <sup>-1</sup>	B	Mn	Zn	Cu
0		13,4 ± 0,8 Aa	12,0 ± 1,2	14,8 ± 1,3	1,5 ± 0,3	5,2 ± 0,5	2,9 ± 0,2	251,5 ± 27,0 Aa	67,2 ± 4,9	13,3 ± 1,2	17,5 ± 1,2	4,3 ± 0,2 Aa
2,5	Folha	12,6 ± 1,8 Aa	10,8 ± 1,6	22,5 ± 2,3	2,1 ± 0,3	6,4 ± 0,7	2,9 ± 0,7	101,7 ± 17,3 Bb	65,3 ± 3,9	27,0 ± 4,7	20,7 ± 1,2	4,0 ± 0,0 Aa
	Solo	15,5 ± 1,3 Aa	12,1 ± 0,8	22,7 ± 1,1	2,5 ± 0,3	6,2 ± 0,5	3,9 ± 0,6	239,0 ± 34,8 Aa	74,7 ± 6,9	18,5 ± 2,3	23,3 ± 1,3	3,3 ± 0,5 Aab
	Folha/Solo	12,8 ± 1,0 Aa	10,5 ± 0,3	20,5 ± 1,8	1,8 ± 0,2	5,4 ± 0,7	2,5 ± 0,3	83,3 ± 12,2 Bb	51,2 ± 3,0	18,8 ± 2,5	18,8 ± 1,5	1,5 ± 0,3 Bc
5	Folha	8,7 ± 0,7 Bb	10,3 ± 1,1	20,3 ± 0,8	1,8 ± 0,3	4,9 ± 0,3	1,9 ± 0,2	123,8 ± 18,1 Bb	53,4 ± 1,7	32,8 ± 5,1	16,3 ± 0,5	2,0 ± 0,4 Ab
	Solo	15,5 ± 0,4 Aa	10,4 ± 0,8	20,0 ± 1,8	2,5 ± 0,4	6,2 ± 0,4	3,3 ± 0,1	242,8 ± 8,5 Aa	61,1 ± 4,8	15,8 ± 2,5	20,0 ± 1,3	2,3 ± 0,5 Ab
	Folha/Solo	11,2 ± 1,0 Ba	12,3 ± 1,4	18,6 ± 1,4	1,8 ± 0,1	5,1 ± 0,4	2,6 ± 0,2	89,5 ± 10,1 Bb	56,6 ± 4,3	22,3 ± 2,9	15,5 ± 0,9	2,5 ± 0,3 Ab
Análise de variância												
Concentração		n.s.	n.s.	*	*	n.s.	n.s.	*	*	*	*	*
Local		*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*	*	n.s.	*	*	n.s.
Concentração x Local		*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.	*

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem pelo teste de Newman-Keuls a 5% de probabilidade. Ao fixar uma concentração, letras maiúsculas comparam os locais, e ao fixar um local, letras minúsculas comparam as concentrações, quando há interação significativa (\*) entre a concentração e o local de aplicação da poeira de cimento. Médias ± erro padrão (n = 4), exceto para o tratamento 2,5 mg cm<sup>-2</sup> Folha, (n = 3). Não significativo (n.s.).

Tabela 4. Teores de pigmentos fotossintéticos (clorofila *a* - Chl *a*, clorofila *b* - Chl *b*, carotenoides - Car e clorofila total - TChl) e rendimento quântico potencial do fotossistema II (Fv/Fm) de folíolos de *Cedrela fissilis*, ao final do experimento com deposição particulada de cimento.

Concentração (mg cm <sup>-2</sup> )	Local	Chl <i>a</i> (mg g <sup>-1</sup> FM)	Chl <i>b</i>	Car	TChl	Chl <i>a/b</i>	Fv/Fm
0		0,53 ± 0,04	0,43 ± 0,04	0,73 ± 0,07	0,96 ± 0,07	1,26 ± 0,03	0,80 ± 0,01
2,5	Folha	0,39 ± 0,18	0,31 ± 0,14	0,50 ± 0,19	0,70 ± 0,31	1,09 ± 0,16	0,71 ± 0,05
	Solo	0,52 ± 0,08	0,43 ± 0,07	0,66 ± 0,09	0,95 ± 0,15	1,22 ± 0,03	0,81 ± 0,01
	Folha/Solo	0,55 ± 0,03	0,49 ± 0,04	0,71 ± 0,03	1,04 ± 0,07	1,11 ± 0,02	0,78 ± 0,01
5	Folha	0,19 ± 0,13	0,18 ± 0,10	0,32 ± 0,10	0,37 ± 0,24	0,85 ± 0,16	0,72 ± 0,04
	Solo	0,55 ± 0,03	0,48 ± 0,03	0,69 ± 0,04	1,04 ± 0,06	1,15 ± 0,01	0,79 ± 0,02
	Folha/Solo	0,48 ± 0,03	0,43 ± 0,03	0,62 ± 0,07	0,91 ± 0,06	1,14 ± 0,06	0,73 ± 0,03
Análise de Variância							
Concentração		n.s.	n.s.	*	n.s.	*	*
Local		*	*	*	*	*	*
Concentração x Local		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem pelo teste de Newman-Keuls a 5% de probabilidade. Ao fixar uma concentração, letras maiúsculas comparam os locais, e ao fixar um local, letras minúsculas comparam as concentrações, quando há interação significativa (\*) entre a concentração e o local de aplicação da poeira de cimento. Médias ± erro padrão (n = 4), exceto nos tratamentos 2,5 e 5 mg cm<sup>-2</sup> Folha, (n = 3). Não significativo (n.s.).

Tabela 5. Efeito da poeira de cimento na atividade de enzimas do sistema antioxidante de folíolos de *Cedrela fissilis*, após 41 dias de exposição.

Concentração (mg cm <sup>-2</sup> )	SOD (U min <sup>-1</sup> mg <sup>-1</sup> prot.)	CAT (μmol min <sup>-1</sup> mg <sup>-1</sup> prot.)	APX (μmol min <sup>-1</sup> mg <sup>-1</sup> prot.)
0	33 ± 2 b	650 ± 26 b	86 ± 5 b
2,5	107 ± 27 a	1.556 ± 319 a	229 ± 53 a
5	90 ± 29 ab	1.312 ± 354 ab	171 ± 43 ab
Análise de variância			
Concentração	*	*	*
Local	n.s.	n.s.	n.s.
Concentração x Local	n.s.	n.s.	n.s.

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem pelo teste de Newman-Keuls. (\*) Nível de significância:  $p \leq 0,05$ . (n.s.) Não significativo. Médias ± erro padrão (n = 4 para a concentração 0 mg cm<sup>-2</sup> e n = 11 para as concentrações 2,5 e 5 mg cm<sup>-2</sup>, estando os dados relativos ao local agrupados dentro de cada concentração, por não apresentarem diferença estatística significativa). Superóxido dismutase - SOD, catalase - CAT e ascorbato peroxidase - APX.

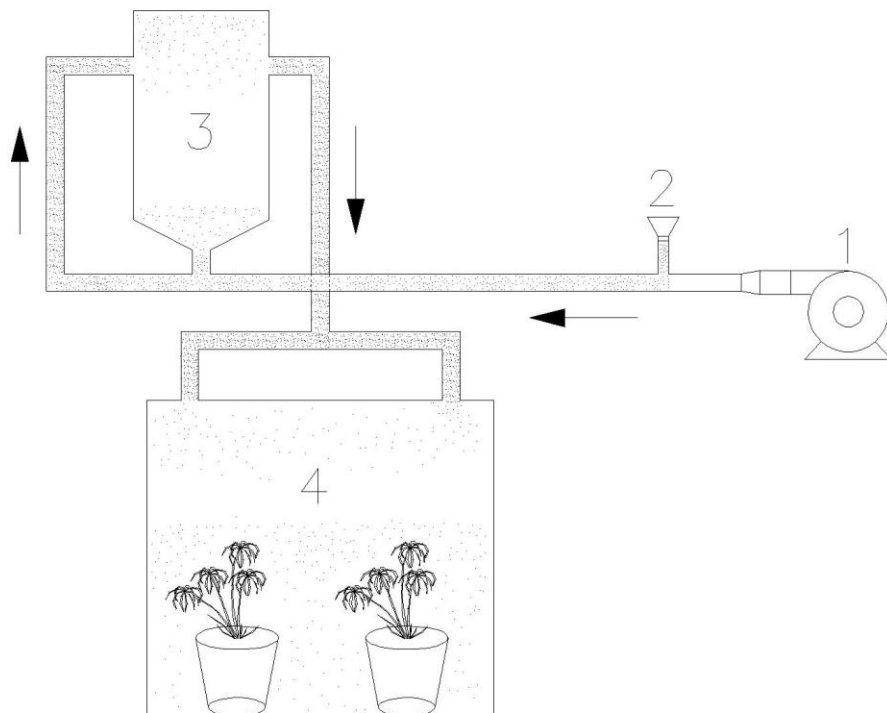


Figura 1. Diagrama da câmara utilizada na aplicação da poeira de cimento. O material particulado de cimento foi introduzido na coluna (2), onde entrou em contato com o ar proveniente da bomba compressora (1) e foi conduzido por suspensão até a câmara de homogeneização (3) e posteriormente para a câmara de deposição (4), local no qual entrou em contato com a superfície foliar e solo das plantas. As setas indicam o fluxo da poeira em suspensão. (Diagrama elaborado por Pissinati, J.S.).

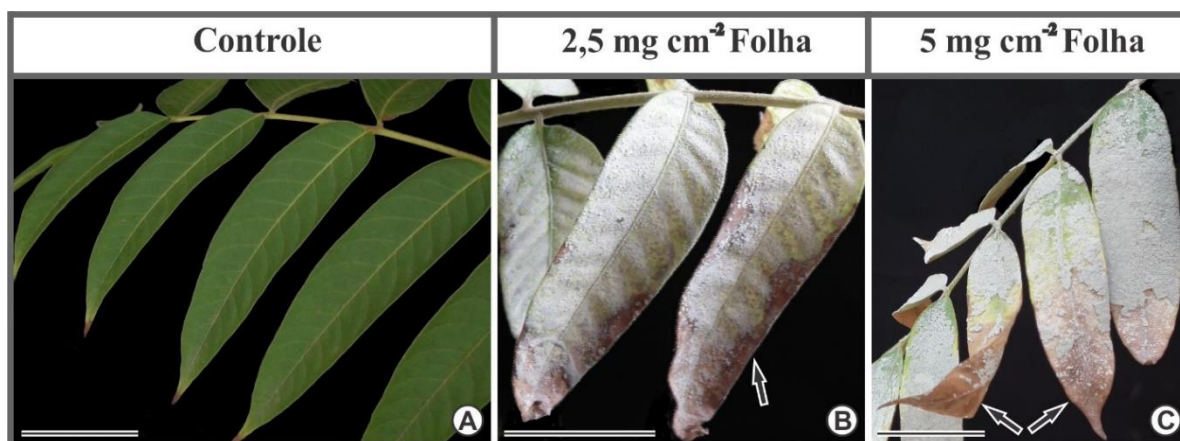


Figura 2. Folíolos de *Cedrela fissilis* (A-C) de folhas do 5° nó, após 41 dias de crescimento na presença (B e C) e ausência (A) de material particulado de cimento sobre a superfície epidérmica. A: Controle, assintomático. B e C: Injúrias na lâmina foliar caracterizadas por necrose (→) e clorose nos tratamentos 2,5 e 5 mg cm<sup>-2</sup> Folha, respectivamente. Barras: 30 mm (A-C).

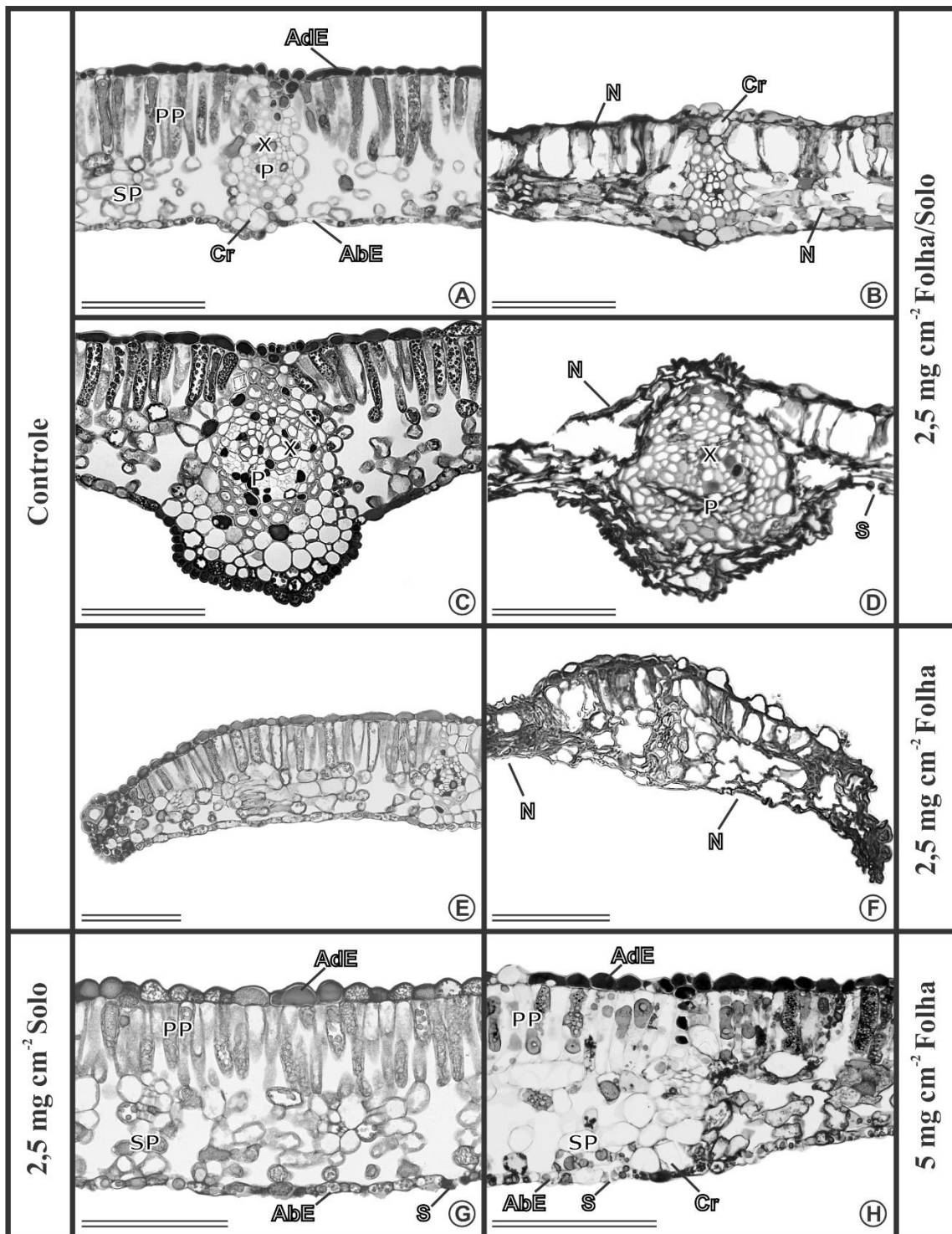


Figura 3. Lâmina foliar de *Cedrela fissilis* (secções transversais). Tratamento controle (A, C e E). Tratamentos com material particulado de cimento (B, D, F-H), após 41 dias de exposição: (B e D) 2,5 mg cm<sup>-2</sup> Folha/Solo, (F e G) 2,5 mg cm<sup>-2</sup> Folha e Solo, respectivamente, e (H) 5 mg cm<sup>-2</sup> Folha. A: Lâmina foliar intacta. B: Lâmina foliar necrosada. C: Nervura intacta. D: Nervura necrosada. E: Margem foliar íntegra. F: Margem foliar necrosada. G: Lâmina foliar intacta. H: Lâmina foliar necrosada e com alteração no padrão de diferenciação dos tecidos. Legenda: (AdE) face adaxial do folíolo, (AbE) face abaxial do folíolo, (PP) parênquima paliçádico, (SP) parênquima lacunoso, (X) xilema, (P) floema, (Cr) cristal prismático, (S) estômato, (N) tecido necrosado. Barras: 100 μm (A-H).

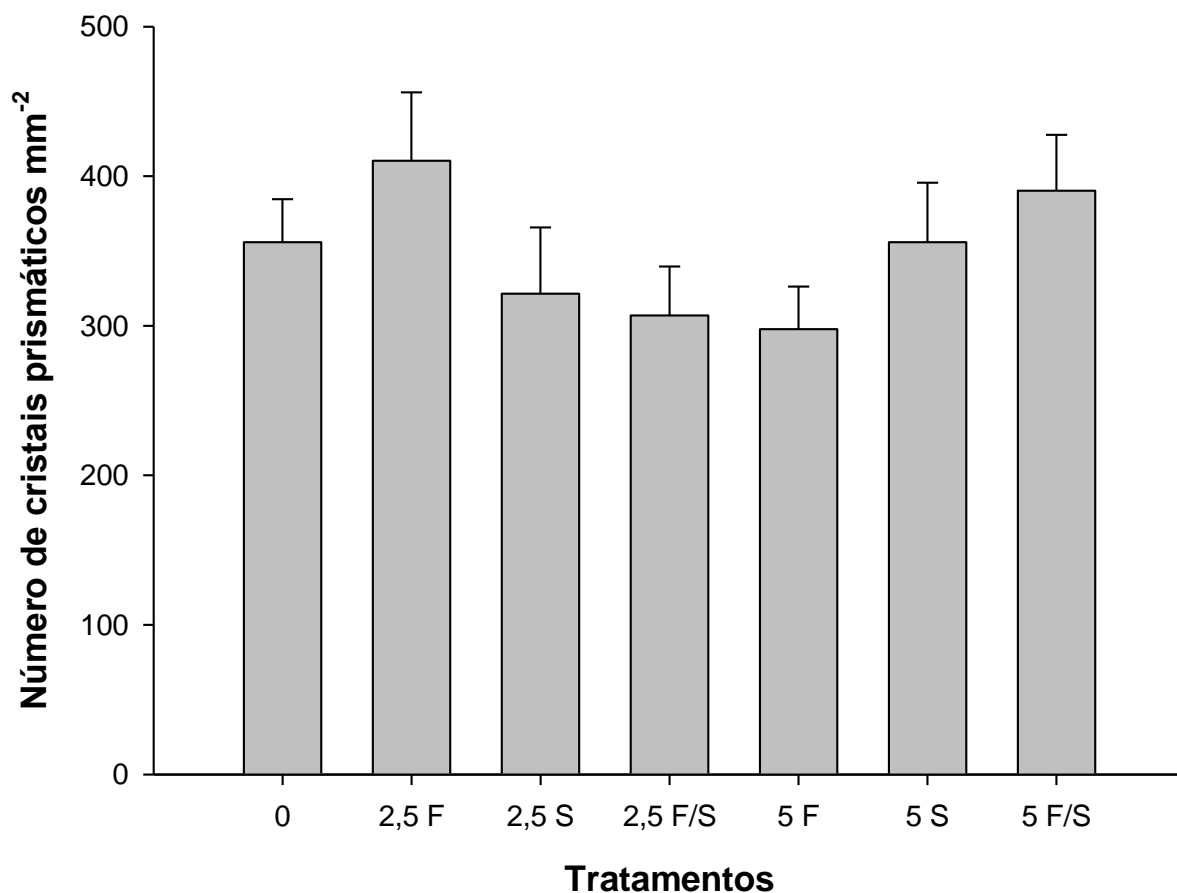


Figura 4. Quantificação de cristais prismáticos em folíolos de *Cedrela fissilis* após exposição à poeira de cimento por 41 dias, nas concentrações de 0; 2,5 e 5 mg cm<sup>-2</sup> aplicadas sobre a superfície foliar (F); sobre o solo (S) e sobre a superfície foliar e solo (F/S). Barras verticais representam as médias  $\pm$  erro padrão (n = 4, exceto para os tratamentos 2,5 e 5 mg cm<sup>-2</sup> Folha, nos quais n = 3), as quais não diferem entre os tratamentos, quando aplicado o teste de Newman-Keuls, a 5% de significância.



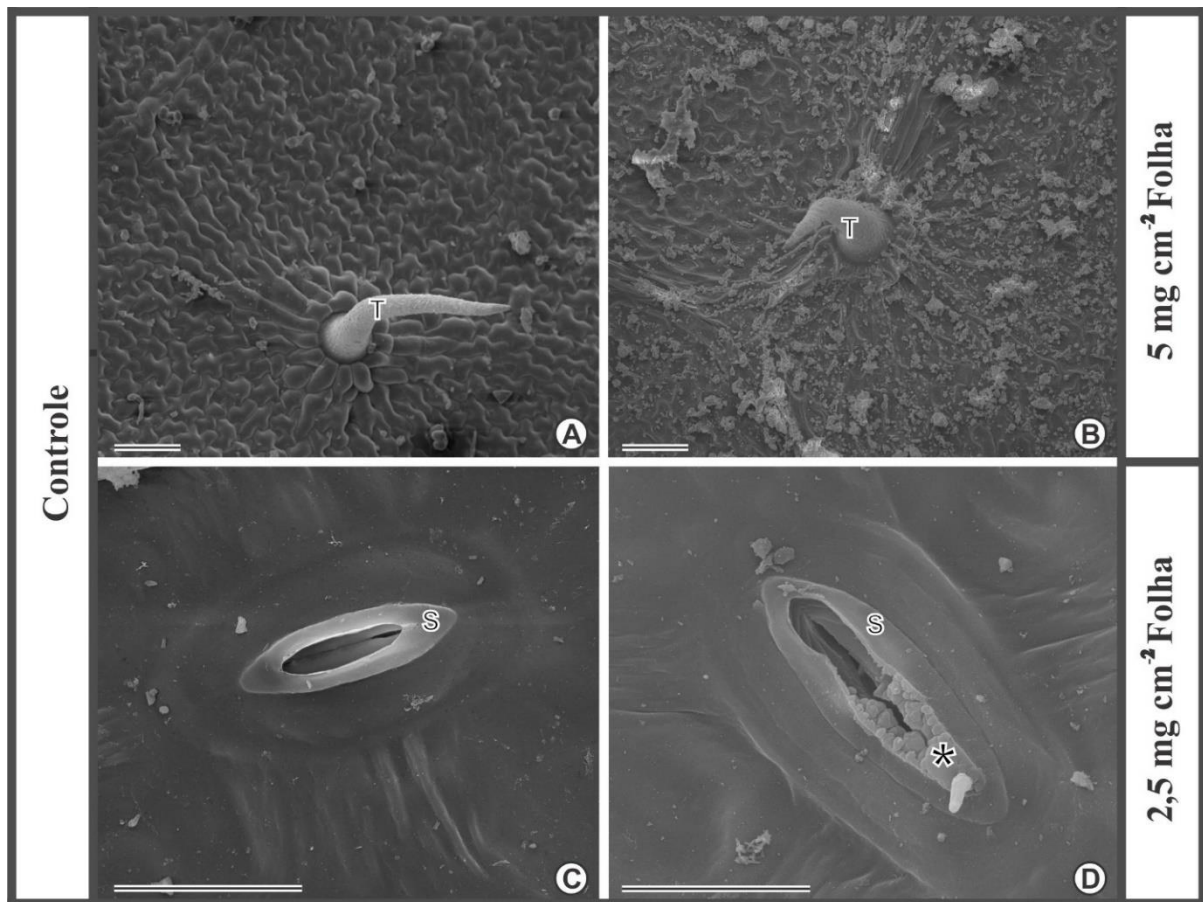


Figura 5. Micromorfologia foliar de *Cedrela fissilis*, face adaxial do folíolo (A e B) e face abaxial do folíolo (C e D). Tratamento controle (A e C). Tratamento com material particulado de cimento (B e D), após 41 dias de deposição sobre a superfície foliar (Folha), nas concentrações de 5 e 2,5 mg cm<sup>-2</sup>, respectivamente. A: Células epidérmicas túrgidas e tricomas tectores (T) íntegros. B: Células epidérmicas apresentando perda da turgidez. C: Estômatos (S) íntegros. D: Estômatos obliterados e crista estomática com aspecto alterado (\*). Barras: 50 μm (A e B); 10 μm (C e D).

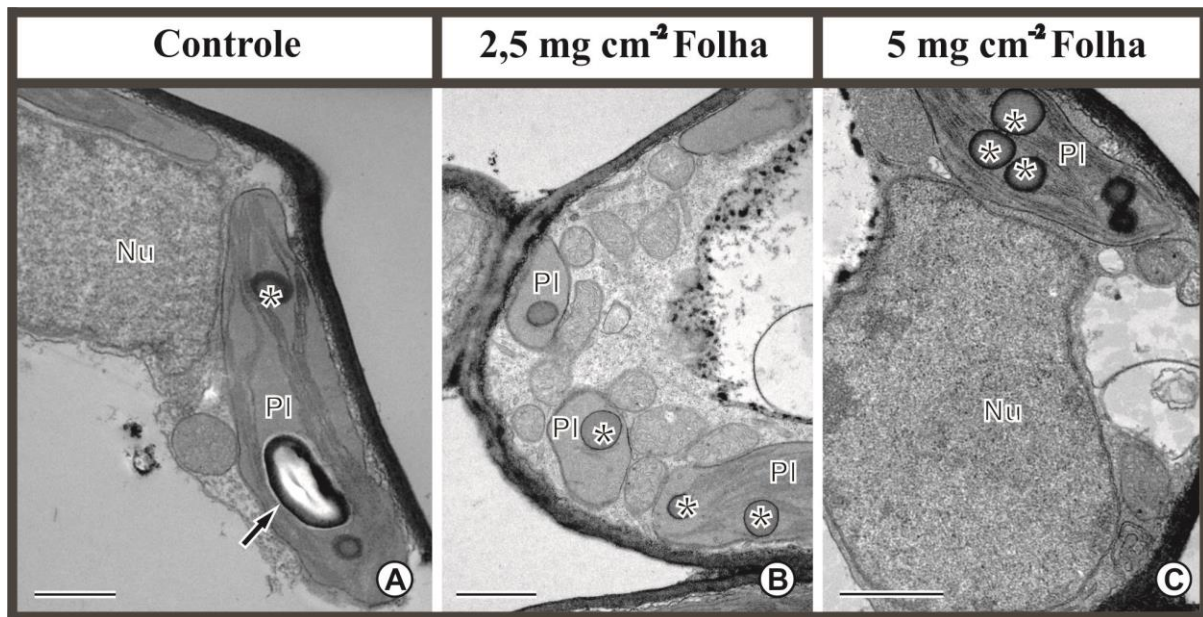


Figura 6. Aspectos ultraestruturais das células do mesofilo de *Cedrela fissilis* (A-C). Tratamento controle (A). Tratamento com material particulado de cimento (B e C), após 41 dias de deposição sobre a superfície foliar (Folha), nas concentrações de 2,5 e 5 mg cm<sup>-2</sup>, respectivamente. A-C: Plastídios (PI) íntegros sem sinais de desorganização no sistema de membranas. Legenda: (Nu) núcleo, (→) grãos de amido, (\*) plastoglóbulos. Barras: 1 μm (A-C).

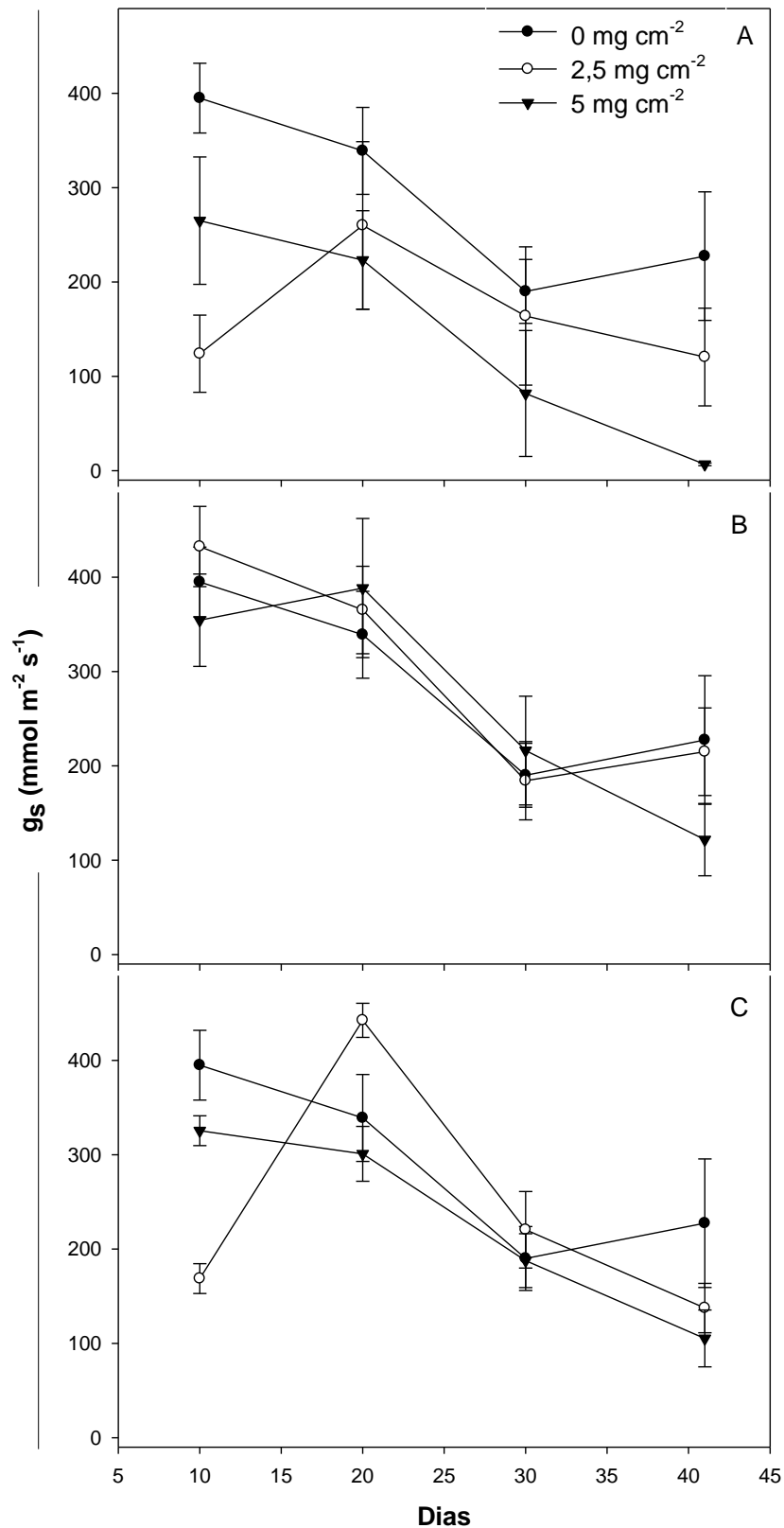


Figura 7. Condutância estomática de folíolos de *Cedrela fissilis* ao longo de 41 dias de exposição à poeira de cimento nas concentrações de 0; 2,5 e 5  $\text{mg cm}^{-2}$  aplicadas sobre a superfície foliar (A); sobre o solo (B) e sobre a superfície foliar e solo (C). Os pontos representam a média  $\pm$  erro padrão ( $n = 4$ , exceto para os tratamentos 2,5 e 5  $\text{mg cm}^{-2}$  Folha após 30 e 41 dias, respectivamente, nos quais  $n = 3$ ).

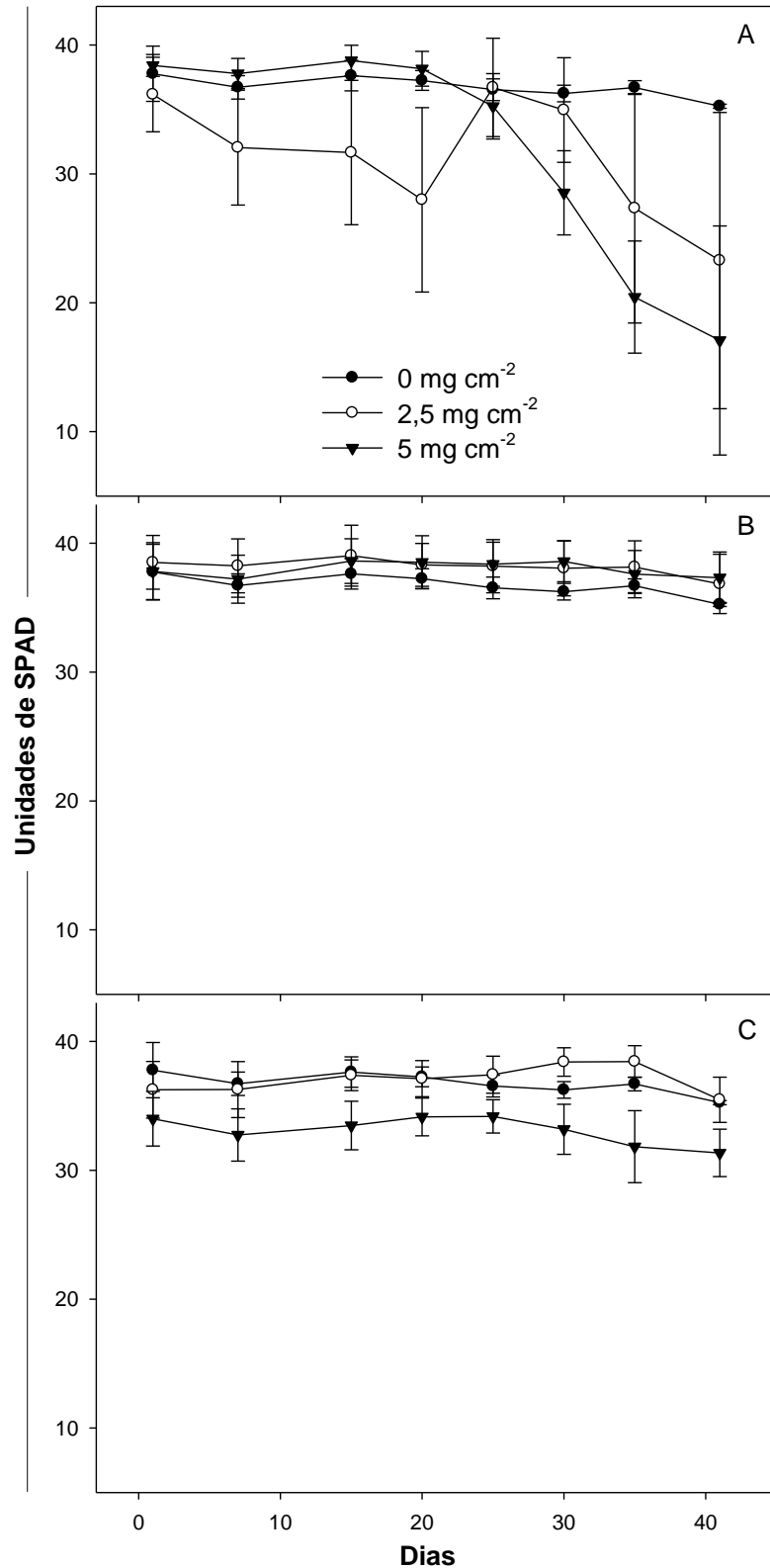


Figura 8. Conteúdo de clorofila (índice SPAD) de folíolos de *Cedrela fissilis* ao longo de 41 dias de exposição à poeira de cimento nas concentrações de 0; 2,5 e 5 mg cm<sup>-2</sup> aplicadas sobre a superfície foliar (A); sobre o solo (B) e sobre a superfície foliar e solo (C). Os pontos representam a média ± erro padrão (n = 4, exceto para os tratamentos 2,5 e 5 mg cm<sup>-2</sup> Folha após 30 e 41 dias, respectivamente, nos quais n = 3).

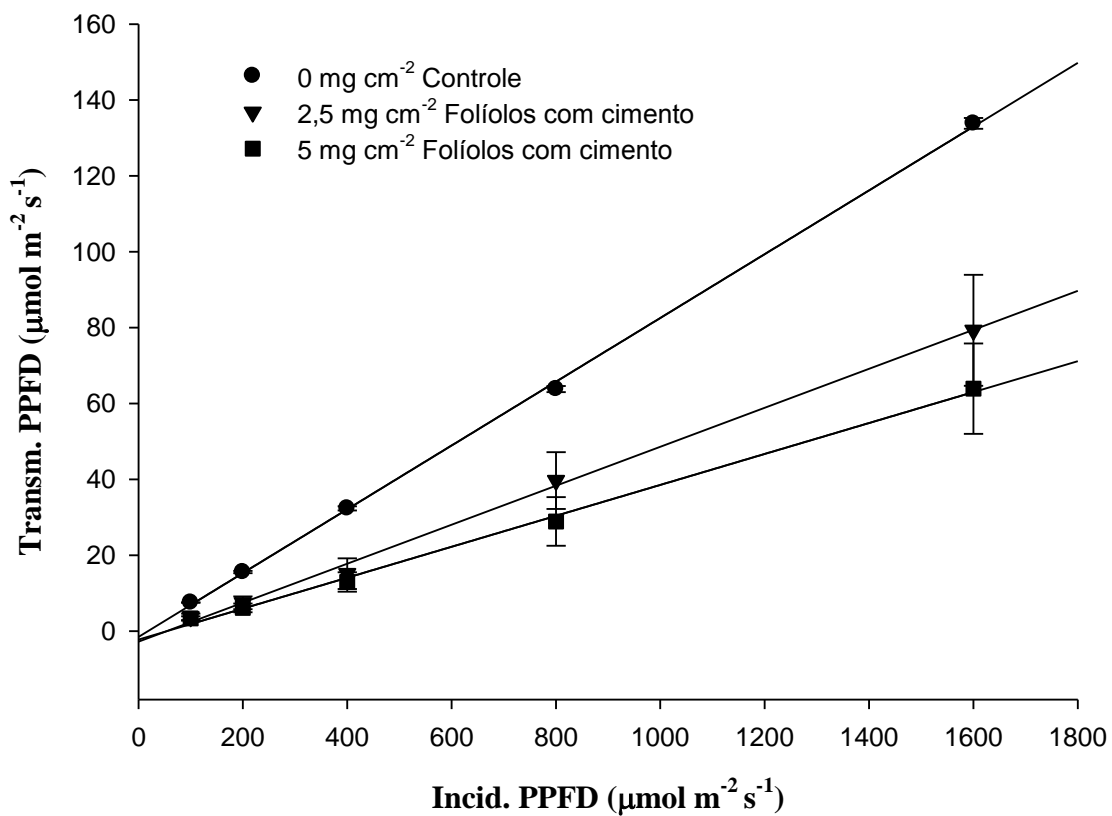


Figura 9. Densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos incidentes (Incid. PPFD) e transmitidos (Transm. PPFD) em folíolos de *Cedrela fissilis* com (▼ e ■) e sem (●) cimento, após deposição da poeira nas concentrações de 0 (●); 2,5 (▼) e 5 mg cm<sup>-2</sup> (■), por um período de 41 dias. Equações de regressão dos tratamentos ( $R^2 = 0,99$ ): (●)  $y = 0,0840x - 1,4736$ ; (▼)  $y = 0,0514x - 2,7580$ ; (■)  $y = 0,0408x - 2,2058$ . Os pontos representam a média  $\pm$  erro padrão ( $n = 4$ ).

#### 4. Discussão

Injúrias foliares como clorose e necrose, além dos sintomas de senescência, abscisão foliar e morte de algumas plantas de *C. fissilis* em um curto período de exposição aos tratamentos (41 dias), indicaram grande sensibilidade desta espécie à poeira de cimento.

Espécies caducifólias, como *C. fissilis* exibem senescência foliar sazonal. Entretanto, a senescência e a abscisão foliar, assim como os demais sintomas foliares, foram consequência do contato direto da poeira com a superfície foliar, uma vez que nas plantas dos tratamentos controle e Solo, não foram detectados a ocorrência destes sintomas. Os resultados obtidos permitem inferir que a caducifolia da espécie pode ser intensificada no ambiente natural em função do estresse gerado pelas emissões de material particulado por indústrias cimenteiras, quando presentes. Estudos de biomonitoramento ativo empregando plantas de *C. fissilis* com até 1 ano de idade serão importantes para confirmar *in situ* esta hipótese.

A redução na espessura do limbo de *C. fissilis* foi resultado do colapso dos tecidos foliares pela necrose, e também foi reportada para *Pinus sylvestris* L. (Lukjanova e Mandre, 2010; Mandre e Lukjanova, 2011) e *Populus tremula* x *P. tremuloides* Michx. (Mandre et al., 2012), em resposta à poeira de cimento.

A clorose visualizada nos folíolos dos tratamentos 2,5 e 5 mg cm<sup>-2</sup> Folha e Folha/Solo de *C. fissilis* está relacionada à redução no teor foliar de Fe, elemento indispensável para a biossíntese de clorofila (Broadley et al., 2012; Taiz e Zeiger, 2013). O bloqueio da luz pela formação da crosta de cimento e os danos causados pela poeira foram também responsáveis pela diminuição nos teores de pigmentos fotossintéticos desta espécie. Em estudos com *Datura innoxia* Mill., cultivada a diferentes distâncias de indústrias cimenteiras, foi também constatada decréscimo nos teores de clorofila e carotenoides, em função principalmente da desaceleração no processo de biossíntese (Salama et al., 2011).

A redução no teor foliar de Fe nos tratamentos 2,5 e 5 mg cm<sup>-2</sup> Folha e Folha/Solo atingiu valores críticos deste elemento (50-150 mg Kg<sup>-1</sup> de massa seca), definidos como deficiência nutricional para grande parte das espécies vegetais (Broadley et al., 2012). Plantas que crescem em solos com pH acima de 7, comumente apresentam deficiência nutricional de Fe (George et al., 2012), condição na qual a solubilidade deste elemento é particularmente baixa (Mandre e Lukjanova, 2011; Broadley et al., 2012). Entretanto no presente estudo, embora os solos de todos os tratamentos tenham apresentado pH acima deste valor, não foi observado redução no teor foliar de Fe nas plantas dos tratamentos controle e Solo. Os resultados aqui encontrados podem estar relacionados a menor translocação de Fe para a parte

aérea da planta, via fluxo transpiratório, em razão da formação da crosta de cimento sobre a superfície foliar, redução da luz transmitida, obliteração do poro estomático pela poeira e redução da condutância estomática ( $g_s$ ). Tal fato é reforçado ao observar os resultados da composição mineral do solo, o qual indicou um certo incremento na concentração de Fe, nos solos que receberam deposição particulada de cimento.

As alterações na composição mineral dos folíolos de *C. fissilis* não podem ser atribuídas à absorção pelas folhas dos componentes minerais presentes na poeira, uma vez que não houve incremento foliar de Fe (micronutriente com maior concentração na poeira) ao ser aplicado cimento nos locais Folha e Folha/Solo. Provavelmente a alcalinidade da poeira e a formação de uma película grossa, representada pela crosta de cimento, contribuíram para impedir ou reduzir a solubilidade e absorção destes nutrientes pelas folhas (Eichert e Fernández, 2012). Tais desequilíbrios nutricionais foram provenientes das alterações no fluxo transpiratório, em função do estresse causado pela deposição da poeira de cimento na superfície foliar.

Folhas com baixos teores de Fe, como observado nas plantas de *C. fissilis* dos tratamentos 2,5 e 5 mg cm<sup>-2</sup> Folha e Folha/Solo, apresentam redução na taxa fotossintética e propensão à fotooxidação e fotoinibição (Broadley et al., 2012). Nas plantas destes tratamentos, os menores teores de pigmentos fotossintéticos podem ter contribuído para a menor eficiência de captura e utilização da energia luminosa (Fv/Fm) pela espécie. A redução na  $g_s$  nos tratamentos que receberam a poeira na parte aérea da planta, é resultado da obliteração do poro estomático e redução da luz transmitida. Menores valores de rendimento quântico potencial (Fv/Fm) e  $g_s$  foram reportados em *Clusia hilariana* Schltld. exposta ao material particulado de Fe (Pereira et al., 2009),

Embora o elemento Fe seja constituinte do sistema redox de células vegetais e de várias enzimas (CAT, peroxidase e SOD, entre outras), a redução foliar deste elemento não implicou em menores atividades enzimáticas (Broadley et al., 2012), quando avaliadas as plantas de *C. fissilis* que receberam a poeira de cimento na superfície foliar em relação às plantas controle.

O aumento na atividade das enzimas do sistema antioxidante nos tratamentos que receberam 2,5 mg cm<sup>-2</sup> de material particulado foi mais um indicativo que a poeira de cimento causa estresse às plantas de *C. fissilis*. O estresse pode induzir a produção de ROS e estimular a atividade de enzimas como CAT, APX e SOD, as quais atuam no combate às ROS e conseqüentemente, na prevenção de danos celulares (Hung et al., 2005). Em *P. halepensis*, crescendo nas imediações de indústrias cimenteiras, foi relatado aumento das atividades enzimáticas da SOD, CAT e peroxidase (Dziri e Hosni, 2012).

Os valores encontrados para a atividade das enzimas na concentração máxima de cimento aplicado em *C. fissilis* podem estar ligados ao maior estresse imposto nestas plantas, o qual, segundo alguns autores, atinge níveis tão elevados que acabam limitando a atividade das enzimas do sistema antioxidante (Schützendübel e Polle, 2002). Em plantas aquáticas, crescendo próximas à uma indústria cimenteira, houve redução nas atividades das enzimas SOD, CAT e peroxidase, quando comparadas às plantas controle, indicando que a poeira afeta negativamente o sistema de defesa antioxidante em plantas (Erdal e Demirtas, 2010).

Em áreas com plena atividade de indústrias cimenteiras, a deposição diária da poeira de cimento pode reduzir ou eliminar espécies mais sensíveis, como *C. fissilis*, e favorecer aquelas mais tolerantes e/ou generalistas. Em um curto período de exposição a este poluente e previamente às alterações no pH e composição química do solo poderá haver danos foliares em decorrência principalmente do contato do material particulado com a parte aérea da planta.

## **5. Conclusões**

A poeira de cimento deve ser considerada poluente atmosférico fitotóxico e *C. fissilis* espécie com grande sensibilidade à mesma. Nesta espécie, a exposição à poeira alcalina causou alterações morfoanatômicas (clorose e necrose foliar, redução na espessura da lâmina foliar, perda da turgidez das células, obliteração do poro estomático e colapso celular), fisiológicas (redução de pigmentos fotossintéticos, alteração na composição nutricional dos folíolos, redução no teor foliar de Fe, queda na  $g_s$  e Fv/Fm, senescência e abscisão foliar precoce) e bioquímicas (aumento da atividade de enzimas do sistema antioxidante – CAT, SOD e APX) em seus folíolos. Os efeitos prejudiciais da poeira de cimento foram anteriores às possíveis alterações no pH e composição química do solo, sendo causados em função principalmente do seu contato com a superfície foliar. As alterações morfofisiológicas e bioquímicas nas folhas de *C. fissilis* em resposta à poeira de cimento, indicaram que esta espécie não é adequada para a revegetação de áreas próximas às indústrias cimenteiras, as quais representam também ameaça à sobrevivência das plantas que estão presentes nestas áreas.

## **Agradecimentos**

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento da pesquisa (473261/2010-3) e pela bolsa de doutoramento concedida ao primeiro autor. À Josiane A. T. Oliveira pela ajuda na condução e



coleta dos experimentos. À Raquel O. Faria pela assistência nas análises enzimáticas. Ao Centro de Microscopia da Universidade Federal de Minas Gerais (<http://www.microscopia.ufmg.br>) por fornecer equipamentos e suporte técnico para as análises ultraestruturais.

### Referências bibliográficas

- Abdul-Wahab, S.A., Worthing, M.A., Al-Maamari, S., 2005. Mineralogy of atmospheric suspended dust in three indoor and one outdoor location in Oman. *Environmental Monitoring and Assessment* 107, 313-327.
- Abdul-Wahab, S.A., 2006. Impact of fugitive dust emissions from cement plants on nearby communities. *Ecological Modelling* 195, 338-348.
- Al-Khashman, O.A., Shawabkeh, R.A., 2006. Metals distribution in soils around the cement factory in southern Jordan. *Environmental Pollution* 140, 387-394.
- Bačić, T., Lynch, A.H., Cutler, D., 1999. Reactions to cement factory dust contamination by *Pinus halepensis* needles. *Environmental and Experimental Botany* 41, 155-166.
- Barros, F.V., Goulart, M.F., Sá Telles, S.B., Lovato, M.B., Valladares, F., Lemos-Filho, J.P., 2012. Phenotypic plasticity to light of two congeneric trees from contrasting habitats: Brazilian Atlantic Forest *versus* Cerrado (savana). *Plant Biology* 14, 208-215.
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72, 248-254.
- Branquinho, C., Gaio-Oliveira, G., Augusto, S., Pinho, P., Má-Guas, C., Correia, O., 2008. Biomonitoring spatial and temporal impact of atmospheric dust from a cement industry. *Environmental Pollution* 151, 292-299.
- Broadley, M., Brown, P., Cakmak, I., Rengel, Z., Zhao, F., 2012. Function of nutrients: Micronutrients, in: Marschner, P. (Ed.), *Mineral nutrition of higher plants*, Academic Press, San Diego, pp. 191-248.
- Chamberlain, C.J., 1932. *Methods in plant histology*. The University of Chicago Press, Chicago, 416 p.
- Defelipo, B.V., Ribeiro, A.C., 1981. *Análise química do solo: metodologia*. Viçosa: UFV/Imprensa Universitária, 17p. (Boletim de Extensão, 29).
- Del Longo, O.T., Gonzalez, C.A., Pastori, G.M., Trippi, V.S., 1993. Antioxidant defences under hyperoxygenic and hyperosmotic conditions in leaves of two lines of maize with differential sensitivity to drought. *Plant and Cell Physiology* 34, 1023-1028.

- Demir, T.A., Akar, T., Akyüz, F., Işikli, B., Kanbak, G., 2005. Nickel and cadmium concentrations in plasma and Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATPase activities in erythrocyte membranes of the people exposed to cement dust emissions. *Environmental Monitoring and Assessment* 104, 437-444.
- Dornelas, M.C., Rodriguez, A.P.M., 2006. The tropical cedar tree (*Cedrela fissilis* Vell., Meliaceae) homolog of the Arabidopsis LEAFY gene is expressed in reproductive tissues and can complement Arabidopsis leafy mutants. *Planta* 223, 306-314.
- Dziri, S., Hosni, K., 2012. Effects of cement dust on volatile oil constituents and antioxidative metabolism of Aleppo pine (*Pinus halepensis*) needles. *Acta Physiologiae Plantarum* 34, 1669-1678.
- Eichert, T., Fernández, V., 2012. Uptake and release of elements by leaves and other aerial plant parts, in: Marschner, P. (Ed.), *Mineral nutrition of higher plants*, Academic Press, San Diego, pp. 71-84.
- Embrapa, 1997. Centro Nacional de Pesquisa de Solos: manual de métodos de análise de solos, 2<sup>o</sup> ed. Embrapa, Rio de Janeiro, 212 p.
- Erdal, S., Demirtas, A., 2010. Effects of cement flue dust from a cement factory on stress parameters and diversity of aquatic plants. *Toxicology and Industrial Health* 26, 339-343.
- Farmer, A.M., 1993. The effects of dust on vegetation – a review. *Environmental Pollution* 79, 63-75.
- Garcia, M.G., Silva, R.S., Carniello, M.A., Veldman, J.W., Rossi, A.A.B., De Oliveira, L.O., 2011. Molecular evidence of cryptic speciation, historical range expansion, and recent intraspecific hybridization in the Neotropical seasonal forest tree *Cedrela fissilis* (Meliaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 61, 639-649.
- George, E., Horst, W.J., Neumann, E., 2012. Adaptation of plants to adverse chemical soil conditions, in: Marschner, P. (Ed.), *Mineral nutrition of higher plants*, Academic Press, San Diego, pp. 409-472.
- Grantz, D.A., Garner, J.H.B., Johnson, D.W., 2003. Ecological effects of particulate matter. *Environment International* 29, 213-239.
- Haapala, H., Goltsova, N., Pitulko, V., Lodenius, M., 1996. The effects of simultaneous large acidic and alkaline airborne pollutants on forest soil. *Environmental Pollution* 94, 159-168.
- Havir, E.A., McHale, N.A., 1987. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. *Plant Physiology* 84, 450-455.
- Hawkesford, M., Horst, W., Kichey, T., Lambers, H., Schjoerring, J., Møller, I.S., White, P., 2012. Functions of macronutrients, in: Marschner, P. (Ed.), *Mineral nutrition of higher plants*, Academic Press, San Diego, pp. 135-189.
- Hirano, T., Kiyota, M., Aiga, I., 1995. Physical effects of dust on leaf physiology of cucumber and kidney bean plants. *Environmental Pollution* 89, 255-261.

- Hung, S.-H., Yu, C.-W., Lin, C.H., 2005. Hydrogen peroxide functions as a stress signal in plants. *Botanical Bulletin of Academia Sinica* 46, 1-10.
- Işikli, B., Demir, T.A., Akar, T., Berber, A., Ürer, S.M., Kalyoncu, C., Canbek, M., 2006. Cadmium exposure from the cement dust emissions: A field study in a rural residence. *Chemosphere* 63, 1546-1552.
- Jalkanen, L., Mäkinen, A., Häsänen, E., Juhanoja, J., 2000. The effect of large anthropogenic particulate emissions on atmospheric aerosols, deposition and bioindicators in the eastern Gulf of Finland region. *Science of the Total Environment* 262, 123-136.
- Karnovsky, M.J., 1965. A formaldehydegutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. *Journal of Cell Biology* 27, 137-138.
- Kuki, K.N., Oliva, M.A., Pereira, E.G., 2008. Iron ore industry emissions as a potential ecological risk factor for tropical coastal vegetation. *Environmental Management* 42, 111-121.
- Lau, O.W., Luk, S.F., 2001. Leaves of *Bauhinia blakeana* as indicators of atmospheric pollution in Hong Kong. *Atmospheric Environment* 35, 3113-3120.
- Lee, D.S., Pacyna, J.M., 1999. An industrial emissions inventory of calcium for Europe. *Atmospheric Environment* 33, 1687-1697.
- Lemos Filho, J.P., Paiva, E.A.S., 2006. The effects of sooty mold on photosynthesis and mesophyll structure of mahogany (*Swietenia macrophylla* King., Meliaceae). *Bragantia* 65, 11-17.
- Lichtenthaler, H.K., Wellburn, A.R., 1983. Determination of total carotenoids and chlorophylls *a* and *b* of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions* 11, 591-592.
- Lukjanova, A., Mandre, M., 2010. Effects of alkalization of the environment on the anatomy of Scots pine (*Pinus sylvestris*) needles. *Water, Air and Soil Pollution* 206, 13-22.
- Malavolta, E., Vitti, G.C., Oliveira, S.A., 1997. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações, Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fósforo, Piracicaba, 319 p.
- Mandre, M., Tuulmets, L., 1997. Pigments changes in Norway spruce induced by dust pollution. *Water Air and Soil Pollution* 94, 247-258.
- Mandre, M., Klõšeiko, J., Ots, K., Tuulmets, L., 1999. Changes in phytomass and nutrient partitioning in young conifers in extreme alkaline growth conditions. *Environmental Pollution* 105, 209-220.
- Mandre, M., 2009. Vertical gradients of mineral elements in *Pinus sylvestris* crown in alkalisied soil. *Environmental Monitoring and Assessment* 159, 111-124.

- Mandre, M., Lukjanova, A., 2011. Biochemical and structural characteristics of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in an alkaline environment. *Estonian Journal of Ecology* 60, 264-283.
- Mandre, M., Klõšeiko, J., Lukjanova, A., Tullus, A., 2012. Hybrid aspens responses to alkalisation of soil: growth, leaf structure, photosynthetic rate and carbohydrates. *Trees - Structure and Function* 26, 1847-1858.
- Mandre, M., Ots, K., 2012. Monitoring of heavy metals uptake and allocation in *Pinus sylvestris* organs in alkalisated soil. *Environmental Monitoring and Assessment* 184, 4105-4117.
- Mwaiselage, J., Moen, B., Bratveit, M., 2006. Acute respiratory health effects among cement factory workers in Tanzania: an evaluation of a simple health surveillance tool. *International Archives of Occupational and Environmental Health* 79, 49-56.
- Nakano, Y., Asada, K., 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology* 22, 867-880.
- Nanos, G.D., Illias, I.F., 2007. Effects of inert dust on olive (*Olea europaea* L.) leaf physiological parameters. *Environmental Science and Pollution Research* 14, 212-214.
- O'Brien, T.P., Feder, N., McCully, M.E., 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma* 59, 368-373.
- Pennington, T.D., Styles, B.T., Taylor, D.H.A., 1981. *Meliaceae*. *Flora Neotropica* 28, 1-470.
- Pereira, E.G., Oliva, M.A., Kuki, K.N., Cambraia, J., 2009. Photosynthetic changes and oxidative stress caused by iron ore dust deposition in the tropical CAM tree *Clusia hilariana*. *Trees – Structure and Function* 23, 277-285.
- Rodrigues, F.A., Joekes, I., 2011. Cement industry: sustainability, challenges and perspectives. *Environmental Chemistry Letters* 9, 151-166.
- Roland, A.M., 1978. General preparations and staining of thin sections, in: Hall, J.L. (Ed.), *Electron Microscopy and Cytochemistry of Plant Cells*, Elsevier, New York, pp. 1-62.
- Salama, H.M.H., Al-Rumaih, M.M., Al-Dosary, M.A., 2011. Effects of Riyadh cement industry pollutions on some physiological and morphological factors of *Datura innoxia* Mill. plant. *Saudi Journal of Biological Sciences* 18, 227-237.
- Schützendübel, A., Polle, A., 2002. Plant responses to abiotic stresses: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization. *Journal of Experimental Botany* 53, 1351-1365.
- Taiz, L., Zeiger, E., 2013. *Fisiologia vegetal*, Artmed, Porto Alegre, 918 p.
- Tedesco, M.J., Gianello, C., Bissani, C.A., Bohnen, H., Volkweiss, S.J., 1995. *Análise de solo, plantas e outros materiais*, Universidade federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 174 p.

- Watmough, S.A., Hutchinson, T.C., Evans, R.D., 1999. The distribution of  $^{67}\text{Zn}$  and  $^{207}\text{Pb}$  applied to white spruce foliage at ambient concentrations under different pH regimes. *Environmental and Experimental Botany* 41, 83-92.
- White, P.J., Broadley, M.R., 2003. Calcium in plants. *Annals of Botany* 92, 487-511.
- Zhao, Z., Tian, L., Fischer, E., Li, Z., Jiao, K., 2008. Study of chemical composition of precipitation at an alpine site and a rural site in the Urumqi river valley, Eastern Tien Shan, China. *Atmospheric Environment* 42, 8934-8942.

## CAPÍTULO II

### **Alterações fotossintéticas e enzimáticas em folhas de três espécies lenhosas nativas em resposta à poeira de cimento**

#### **RESUMO**

Espécies lenhosas nativas do estado de Minas Gerais, Brasil, que ocorrem em áreas de afloramentos calcários, têm recebido material particulado proveniente da atividade de indústrias cimenteiras. Objetivou-se caracterizar os efeitos da poeira de cimento em variáveis bioquímicas e fisiológicas das folhas de *Guazuma ulmifolia* Lam. (Malvaceae), *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) e *Trichilia hirta* L. (Meliaceae). Por um período de 60 dias, as plantas foram submetidas por duas vezes, às concentrações de 0; 2,5 e 5 mg cm<sup>-2</sup> de material particulado de cimento aplicadas sobre a superfície foliar; sobre o solo e sobre a superfície foliar e solo, em condições de exposição controlada e solo padronizado. Ao final dos experimentos, em todas as espécies avaliadas, a poeira alcalina causou bloqueio de parte da luz incidente, alterações nos teores de pigmentos fotossintéticos (clorofila *a*, *b* e carotenoides) e de nutrientes foliares, com redução no teor foliar de ferro (Fe). Em *G. ulmifolia* houve elevação do teor foliar de cálcio (Ca) e queda nos valores de rendimento quântico potencial do fotossistema II (Fv/Fm). Nas três espécies não foram observadas alterações significativas nos valores de condutância estomática (g<sub>s</sub>) e nas atividades das enzimas (superóxido dismutase - SOD, catalase - CAT e ascorbato peroxidase - APX) do sistema antioxidante das folhas, exceto em *M. urundeuva*, cuja atividade da SOD aumentou na concentração máxima de cimento aplicada sobre a superfície foliar e solo. Embora as respostas das espécies frente ao poluente tenham apresentado algumas diferenças, *G. ulmifolia*, *M. urundeuva* e *T. hirta* podem ser consideradas tolerantes à poeira de cimento, por período mínimo de 60 dias de exposição.

**Palavras-chave:** *Guazuma ulmifolia*, *Myracrodruon urundeuva*, *Trichilia hirta*, nutrição mineral, poluição, fotossíntese, sistema antioxidante.

## Photosynthetic and enzymatic changes in leaves of three native woody species in response to cement dust

### ABSTRACT

Native woody species in the state of Minas Gerais, Brazil, occurring in areas of limestone outcrops, have received particulate matter from the activity of cement factories. This work aimed to characterize the effects of cement dust on biochemical and physiological variables of the leaves *Guazuma ulmifolia* Lam. (Malvaceae), *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) and *Trichilia hirta* L. (Meliaceae). For a period of 60 days, the plants were subjected twice to concentrations of 0; 2.5 and 5 mg cm<sup>-2</sup> of particulate matter from cement applied on the leaf surface; on the soil and leaf surface and soil, in controlled exposure conditions and standardized soil. At the end of the experiments, in all species evaluated, alkaline dust caused blockade of part of the incident light, changes in the contents of photosynthetic pigments (chlorophyll *a*, *b* and carotenoids) and in foliar nutrients, with reduction in leaf iron (Fe) content. In *G. ulmifolia* there was an increase of foliar calcium (Ca) content and decrease in the values of potential quantum yield of photosystem II (Fv/Fm). In all three species, no significant changes in values of stomatal conductance (gs) and in enzymes activities were observed (superoxide dismutase - SOD, catalase - CAT and ascorbate peroxidase - APX) at the antioxidant system of leaves, except in *M. urundeuva*, whose activity of SOD increased in the maximum concentration of cement applied on leaf surface and soil. Although the species responses to pollutant have shown some differences, *G. ulmifolia*, *M. urundeuva* and *T. hirta* can be considered tolerant to cement dust, for a minimum period of 60 days of exposure.

**Keywords:** *Guazuma ulmifolia*, *Myracrodruon urundeuva*, *Trichilia hirta*, mineral nutrition, pollution, photosynthesis, antioxidant system.

## 1. Introdução

Uma das principais fontes de material particulado em suspensão é a indústria cimenteira (Grantz et al., 2003; Demir et al., 2005; Işikli et al., 2006; Rodrigues e Joekes, 2011), a qual emite poeira em quase todos os estágios da produção de cimento (Abdul-Wahab, 2006). O Brasil está entre os 10 países com maior produção de cimento no mundo (Rodrigues e Joekes, 2011), representando um risco para a vegetação nativa local e regional.

Embora o número de estudos que abordam o impacto da poeira de cimento em espécies vegetais esteja crescendo ao longo dos anos (Farmer, 1993; Işikli et al., 2006; Dziri e Hosni, 2012; Paal et al., 2013; Mandre, 2014), pesquisas abrangendo espécies lenhosas nativas (*Guazuma ulmifolia*, *Myracrodruon urundeuva* e *Trichilia hirta*) do estado de Minas Gerais, Brasil (Oliveira-Filho, 2006) sob a influência de indústrias cimenteiras, principalmente em áreas de afloramentos calcários, são praticamente inexistentes até o momento. O emprego de biomonitores em áreas de atuação destas indústrias podem ser úteis na avaliação da qualidade do ar local (Abril et al., 2014).

*G. ulmifolia* Lam. (Malvaceae) é uma espécie heliófita, semidecídua, de folhas simples, pubescentes e medicinais, cujos frutos constituem recursos alimentares para macacos (Lorenzi, 1998; Lorenzi e Matos, 2008). Segundo estes autores, *M. urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) é uma planta heliófita, decídua, de folhas compostas imparipinadas, pubescentes e medicinais; e *T. hirta* L. (Meliaceae) é heliófita, semidecídua, de folhas compostas imparipinadas, sendo que sua madeira possui valor comercial e seus frutos são atrativos alimentares para pássaros.

A poluição por poeira é um problema mundial, que pode afetar as taxas fotossintéticas e transpiratórias nas plantas, contribuir para a entrada de poluentes fitotóxicos (Semhi et al., 2010) e acúmulo de elementos essenciais e não essenciais à planta (Lau e Luk, 2001), além de redução no conteúdo de clorofila (Nanos e Ilias, 2007; Lukjanova e Mandre, 2010) e toxicidade ou deficiência de elementos essenciais (Mutlu et al., 2013). Em razão da deposição de material particulado na superfície foliar, o crescimento e o desenvolvimento das plantas podem também ser afetados pelo bloqueio da luz, abrasão, aquecimento foliar e alterações nas trocas gasosas (Farmer, 1993; Hirano et al., 1995; Grantz et al., 2003; Pereira et al., 2009).

Segundo Dziri e Hosni (2012), a poeira de cimento induz a peroxidação lipídica e estimula as atividades de enzimas antioxidantes (superóxido dismutase - SOD, catalase - CAT e peroxidase), estando as plantas sujeitas a estresse oxidativo, por meio da geração de espécies reativas de oxigênio (ROS), com os lipídios sendo os alvos celulares primários. Apesar das ROS serem subprodutos inevitáveis do metabolismo aeróbio e necessárias ao crescimento



normal das plantas, suas concentrações nas células devem ser mantidas baixas, evitando danos oxidativos ao DNA, proteínas e lipídios (Apel e Hirt, 2004; Bhaduri e Fulekar, 2012). As plantas dispõem de sistemas de defesa enzimáticos (SOD, CAT e ascorbato peroxidase - APX, entre outros) e não enzimáticos (carotenoides, glutatona, tocoferol, alcaloides, entre outros), os quais atuam no controle dos níveis de ROS nas células (Apel e Hirt, 2004).

A exposição à poeira de cimento tem causado prejuízos às plantas (Mandre e Lukjanova, 2011; Lukjanova et al., 2013; Mutlu et al., 2013). Além do cálcio (Ca), principal elemento químico presente na poeira de cimento (Lee e Pacyna, 1999; Branquinho et al., 2008), em sua composição pode haver também uma mistura de metais (Cu, Mn, Fe, Cr, Zn, Hg, Cd e Pb, entre outros), cujas concentrações variam entre as indústrias (Ogunbileje et al., 2013) em função principalmente da fonte de matéria-prima e do tipo de combustível empregado (Bhatty, 1995).

Metais em altas concentrações podem ser fitotóxicos (Mandre e Ots, 2012). Entretanto, teores elevados de metais no solo próximo à indústria cimenteira em função da deposição de poeira nem sempre implicam em concentrações similares nos tecidos de espécies vegetais crescendo nestas áreas (Mandre, 2014). Segundo Mandre e Lukjanova (2011) a sensibilidade das plantas ao material particulado alcalino é variável e há grande contradição na literatura do seu real impacto.

Os objetivos do presente estudo foram caracterizar os efeitos da poeira de cimento nas folhas de *G. ulmifolia*, *M. urundeuva* e *T. hirta*, através das seguintes análises: (1) atividades de enzimas do sistema antioxidante (superóxido dismutase - SOD, catalase - CAT e ascorbato peroxidase - APX); (2) variáveis fotossintéticas (clorofila *a* - Ch *a*, clorofila *b* - Ch *b*, carotenoides - Car, rendimento quântico potencial - Fv/Fm, condutância estomática -  $g_s$  e densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos - PPFD) e (3) quantificação de nutrientes foliares. Os resultados poderão ser úteis na escolha de marcadores biológicos e espécies vegetais para conservação e recuperação de áreas impactadas pelas atividades de indústrias cimenteiras.

## **2. Material e Métodos**

### **2.1. Cultivo das plantas**

*Guazuma ulmifolia* Lam. (Malvaceae), *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) e *Trichilia hirta* L. (Meliaceae) foram as espécies lenhosas estudadas, devido

à facilidade de cultivo, crescimento rápido, por serem nativas de Minas Gerais e por ocorrerem em áreas de afloramentos calcários, principais locais de exploração das indústrias cimenteiras.

A procedência das sementes utilizadas no presente estudo foram: *G. ulmifolia* - matrizes situadas no Parque Ecológico Promotor Francisco Lins do Rego, localizado na orla da Lagoa da Pampulha, Belo Horizonte; *M. urundeuva* - doação do Laboratório de Sementes Florestais de Belo Horizonte, pertencente à Companhia Energética de Minas Gerais S.A. (Cemig) e *T. hirta* - matrizes provenientes da arborização urbana no entorno da UFMG.

Em todos os experimentos foram utilizadas sementes recém-colhidas, sendo aplicado o tratamento pré-germinativo de quebra da dormência tegumentar das sementes de *G. ulmifolia* através da imersão em ácido sulfúrico concentrado por 50 minutos (Araújo Neto e Aguiar, 2000). Em *M. urundeuva* as sementes foram colocadas para germinar intactas e em *T. hirta*, previamente à sementeira, foi feita a remoção manual do arilo em água corrente, seguido da secagem das sementes ao ar livre, visando reduzir a contaminação por fungos.

As plantas foram cultivadas diretamente em vasos de polipropileno, no mesmo local e demais condições experimentais já descritas no item 2.1 do Capítulo I. Nestes vasos, as plantas de *G. ulmifolia*, *M. urundeuva* e *T. hirta* permaneceram por cinco, seis e nove meses, respectivamente, momento em que se procedeu o início dos experimentos de deposição da poeira de cimento.

## **2.2. Aplicação da poeira de cimento**

Os tratamentos e as condições experimentais de aplicação da poeira de cimento foram os mesmos descritos no item 2.2 do Capítulo I.

Os experimentos foram encerrados após 60 dias da primeira simulação de deposição da poeira de cimento.

## **2.3. Quantificação do material particulado na superfície foliar**

Ao final dos experimentos, foi quantificado o material particulado de cimento depositado na superfície foliar conforme metodologia descrita no item 2.3 do Capítulo I. Para tal, três folhas do 3º nó de *G. ulmifolia* e cinco folíolos do 4º nó de *M. urundeuva* e *T. hirta* foram coletados aleatoriamente em cada planta e utilizados nas quantificações.

## **2.4. Teores de nutrientes foliares e composição química do solo e cimento**

Ao término dos experimentos, os teores de nutrientes foliares e a composição química do solo e cimento foram determinados seguindo metodologia já descrita no item 2.4 do Capítulo I.

## **2.5. Variáveis fotossintéticas**

Ao final dos experimentos, as variáveis fotossintéticas: clorofila *a* (Chl *a*), clorofila *b* (Chl *b*), carotenoides (Car), rendimento quântico potencial do fotossistema II (Fv/Fm), condutância estomática ( $g_s$ ) e densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (PPFD) foram avaliadas conforme metodologia descrita no item 2.7 do Capítulo I. Para tal, foram utilizadas folhas (*G. ulmifolia*) e folíolos (*M. urundeuva* e *T. hirta*) do 7º e 8º nós totalmente expandidos e com aparência sadia.

## **2.6. Atividade enzimática**

Para a medida das atividades enzimáticas do sistema antioxidante ao final dos experimentos foram também utilizadas folhas (*G. ulmifolia*) e folíolos (*M. urundeuva* e *T. hirta*) do 7º e 8º nós, utilizando as metodologias descritas no item 2.8 do Capítulo I, com modificações para a espécie *G. ulmifolia*. Nesta espécie foram empregadas polivinilpolipirrolidona nas proporções de 40 mg para cada 0,2 g de tecido vegetal, além de 1700 µL de tampão fosfato de sódio na obtenção do homogenato celular, detergente CHAPS a 2% no tampão de extração e rotação da centrífuga a 16.000 x g.

## **2.7. Análise estatística**

Os experimentos seguiram o mesmo delineamento e foram submetidos às mesmas análises estatísticas descritas no item 2.9 do Capítulo I.

### 3. Resultados

#### 3.1. Quantificação de material particulado na superfície foliar

Nas três espécies analisadas houve formação de crosta de cimento na superfície foliar, e ao final dos experimentos a quantidade de material particulado depositado nesta região ficou abaixo das concentrações aplicadas. Para a concentração nominal de  $2,5 \text{ mg cm}^{-2}$  após duas aplicações de cimento foram encontrados 1,9; 1,6 e  $1,2 \text{ mg cm}^{-2}$ ; e para  $5 \text{ mg cm}^{-2}$  foram 3,2; 4,2 e  $3,2 \text{ mg cm}^{-2}$ , respectivamente em *G. ulmifolia*, *M. urundeuva* e *T. hirta*.

#### 3.2. Quantificação de nutrientes nas folhas e composição química do solo e cimento

A composição química do cimento e do solo utilizado na montagem dos experimentos foram apresentadas nas Tabelas 1 e 2, respectivamente, item 3.2 do Capítulo I.

Ao final dos experimentos, para as três espécies vegetais, as características químicas do solo apresentaram similaridade entre os diferentes tratamentos (Tabelas 1-3), indicando que o material particulado praticamente não alterou a composição química e o pH do solo.

Incremento foliar de Ca foi observado ao final dos experimentos somente para a espécie *G. ulmifolia* (Tabela 4). Houve redução no teor foliar de Fe com a aplicação do poluente, seja nos tratamentos Folha e Folha/Solo (*M. urundeuva* e *T. hirta*), ou independente do local de aplicação, como observado em *G. ulmifolia* (Tabela 4). Para o elemento Fe, houve interação significativa entre concentração x local de deposição, nas espécies *M. urundeuva* e *T. hirta*. Em *M. urundeuva* o teor foliar deste elemento apresentou elevado nas plantas controle e do tratamento Solo, com valores acima do considerado como limite de toxidez ( $>500 \text{ mg Kg}^{-1}$ ). A poeira também causou alteração na composição mineral foliar de outros elementos químicos (Dados não mostrados). Em ambas as concentrações de cimento houve elevação nos teores foliares de K (*G. ulmifolia*) e Mn (*T. hirta*), independente do local de deposição, assim como para os elementos Mn (*G. ulmifolia*), K (*M. urundeuva*), Cu (*T. hirta*) na concentração máxima. O mesmo foi observado para os elementos N (*G. ulmifolia*) no tratamento  $2,5 \text{ mg cm}^{-2}$  Folha, S (*G. ulmifolia*) em ambas as concentrações na Folha/Solo e B (*T. hirta*) nos tratamentos  $2,5$  e  $5 \text{ mg cm}^{-2}$  Solo e Folha/Solo. Em *G. ulmifolia*, houve redução nos teores foliares de Cu na concentração máxima, bem como para B ao aplicar  $2,5 \text{ mg cm}^{-2}$  de poeira na Folha. Houve também redução nos teores foliares de Zn em *M. urundeuva*, quando a poeira foi aplicada na Folha e Folha/Solo, assim como P ao ser depositada no Solo e Folha/Solo de *M. urundeuva*,

independente da concentração utilizada. Os teores foliares de Mg, P, Zn de *G. ulmifolia*; N, Mg, S, Mn, Cu, B de *M. urundeuva* e N, P, K, Mg, S, Zn de *T. hirta* não foram influenciados pela exposição à poeira de cimento, e apresentaram valores semelhantes entre os diferentes tratamentos (Dados não mostrados).

### 3.3. Variáveis fotossintéticas

Na concentração máxima de cimento, houve elevação no teor de Chl *b* de *G. ulmifolia* e *T. hirta* e redução nos teores de Chl *a*, *b* e Car de *M. urundeuva* (Tabela 5). Aumento também no teor de Chl *b* foi observado para *T. hirta* na concentração de 2,5 mg cm<sup>-2</sup> de poeira. Os teores de Chl *a* e Car em *G. ulmifolia* e *T. hirta* não foram alterados pela deposição de cimento, assim como não houve influência significativa do local de aplicação da poeira sobre os teores de pigmentos das três espécies estudadas (Tabela 5).

Para as três espécies vegetais, ao longo dos 60 dias dos experimentos de simulação, não houve alteração na condutância estomática (Fig. 1) em função da exposição das plantas a diferentes concentrações e locais de deposição da poeira de cimento.

A deposição de material particulado causou decréscimo no rendimento quântico potencial do PSII de *G. ulmifolia* (Fig. 2). Os menores valores de Fv/Fm em *G. ulmifolia* foram observados quando o cimento foi aplicado na Folha em sua concentração máxima e no Solo, na concentração de 2,5 mg cm<sup>-2</sup> (Fig. 2).

Ao entrar em contato com a umidade e a superfície foliar, o cimento formou uma crosta e bloqueou 38, 49 e 25% da luz incidente na concentração de 2,5 mg cm<sup>-2</sup> de poeira e 53, 64 e 31% em sua concentração máxima, respectivamente para *G. ulmifolia*, *M. urundeuva* e *T. hirta* (Fig. 3). Em ambas as concentrações de cimento, a luz transmitida através da lâmina foliar das três espécies vegetais aumentou significativamente quando a poeira foi removida dos folíolos, e o seu valor foi similar àqueles observados nas plantas controle (Dados não mostrados).

### 3.4. Enzimas antioxidantes

A aplicação de poeira de cimento não proporcionou alteração nas atividades das enzimas do sistema antioxidante nas folhas das espécies estudadas, exceto em *M. urundeuva*, cuja atividade da SOD aumentou em torno de 48% em relação às plantas controle, quando folhas e solo foram tratados simultaneamente com 5 mg cm<sup>-2</sup> de cimento (Fig. 4).

Tabela 1. Características químicas do solo (0-5 cm de profundidade) de *Guazuma ulmifolia* ao final do experimento de deposição particulada de cimento.

Características Químicas	Tratamentos (solo após 60 dias de experimento)						
	0 mg cm <sup>-2</sup>	2,5 mg cm <sup>-2</sup>			5 mg cm <sup>-2</sup>		
	Controle	Folha	Solo	Folha/Solo	Folha	Solo	Folha/Solo
pH H <sub>2</sub> O	7,0	7,1	7,3	7,3	7,3	7,6	7,7
P (mg dm <sup>-3</sup> )	50,8	59,9	46,4	55,3	53,0	53,0	53,0
K (mg dm <sup>-3</sup> )	88,0	122,0	86,0	81,0	82,0	80,0	113,0
Ca <sup>+2</sup> (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	10,7	9,6	11,0	9,8	9,7	9,7	10,1
Mg <sup>+2</sup> (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	1,6	1,6	1,6	1,5	1,5	1,4	1,6
Al <sup>+3</sup> (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
H+Al (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	1,0	0,5	0,3	0,2	0,7	0,0	0,3
SB (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	12,5	11,5	12,8	11,5	11,4	11,3	12,0
CTC <sub>i</sub> (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	12,5	11,5	12,8	11,5	11,4	11,3	12,0
CTC <sub>T</sub> (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	13,5	12,0	13,1	11,7	12,1	11,3	12,3
V (%)	93,0	96,0	97,0	99,0	95,0	100,0	97,0
m (%)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
MO (%)	7,7	8,1	7,7	6,8	6,6	6,2	6,9
P-rem (mg L <sup>-1</sup> )	47,6	47,6	47,6	51,2	51,2	47,6	46,4
Zn (mg dm <sup>-3</sup> )	12,5	11,9	12,5	10,9	10,3	10,9	11,7
Fe (mg dm <sup>-3</sup> )	21,1	12,1	13,3	14,9	13,1	16,4	15,2
Mn (mg dm <sup>-3</sup> )	45,8	42,0	45,8	43,0	39,1	45,8	54,5
Cu (mg dm <sup>-3</sup> )	0,5	0,3	0,5	0,5	0,3	0,4	0,4
B (mg dm <sup>-3</sup> )	0,3	0,7	0,2	0,4	0,4	0,1	0,4
S (mg dm <sup>-3</sup> )	39,1	40,6	37,5	39,1	34,4	37,5	36,0

Amostras compostas (n = 4). Legenda: (SB) soma de bases trocáveis, (CTC<sub>i</sub>) capacidade de troca catiônica efetiva, (CTC<sub>T</sub>) capacidade de troca catiônica a pH 7,0; (V) índice de saturação de bases, (m) índice de saturação de alumínio, (MO) matéria orgânica, (P-rem) fósforo remanescente e (n.d.) não detectado.

Tabela 2. Características químicas do solo (0-5 cm de profundidade) de *Myracrodruon urundeuva* ao final do experimento de deposição particulada de cimento.

Características Químicas	Tratamentos (solo após 60 dias de experimento)						
	0 mg cm <sup>-2</sup>		2,5 mg cm <sup>-2</sup>		5 mg cm <sup>-2</sup>		
	Controle	Folha	Solo	Folha/Solo	Folha	Solo	Folha/Solo
pH H <sub>2</sub> O	6,6	7,1	6,9	6,9	6,9	7,0	7,5
P (mg dm <sup>-3</sup> )	22,4	34,7	19,4	17,3	33,1	37,4	19,9
K (mg dm <sup>-3</sup> )	135,0	140,0	126,0	124,0	113,0	127,0	140,0
Ca <sup>+2</sup> (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	12,2	14,9	12,1	14,1	15,9	14,8	12,9
Mg <sup>+2</sup> (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	1,5	1,7	1,4	1,5	1,7	1,5	1,4
Al <sup>+3</sup> (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
H+Al (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	1,3	1,5	1,3	1,3	1,3	1,3	1,0
SB (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	14,1	17,0	13,9	16,0	17,9	16,7	14,7
CTC <sub>i</sub> (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	14,1	17,0	13,9	16,0	17,9	16,7	14,7
CTC <sub>T</sub> (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	15,4	18,5	15,2	17,3	19,3	18,0	15,7
V (%)	91,0	92,0	91,0	92,0	93,0	93,0	94,0
m (%)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
MO (%)	9,0	11,0	6,4	7,9	10,7	9,0	8,5
P-rem (mg L <sup>-1</sup> )	43,0	45,8	39,1	39,1	41,1	39,1	37,4
Zn (mg dm <sup>-3</sup> )	12,7	15,7	13,4	8,6	15,2	11,1	13,4
Fe (mg dm <sup>-3</sup> )	41,2	58,5	69,9	81,4	68,0	54,6	77,6
Mn (mg dm <sup>-3</sup> )	53,4	61,8	62,6	50,0	68,5	64,3	68,5
Cu (mg dm <sup>-3</sup> )	0,2	0,3	0,4	0,2	0,0	0,4	0,4
B (mg dm <sup>-3</sup> )	0,4	0,6	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
S (mg dm <sup>-3</sup> )	38,0	40,8	42,2	39,4	42,2	42,2	43,6

Amostras compostas (n = 4). Legenda: (SB) soma de bases trocáveis, (CTC<sub>i</sub>) capacidade de troca catiônica efetiva, (CTC<sub>T</sub>) capacidade de troca catiônica a pH 7,0; (V) índice de saturação de bases, (m) índice de saturação de alumínio, (MO) matéria orgânica, (P-rem) fósforo remanescente e (n.d.) não detectado.

Tabela 3. Características químicas do solo (0-5 cm de profundidade) de *Trichilia hirta* ao final do experimento de deposição particulada de cimento.

Características Químicas	Tratamentos (solo após 60 dias de experimento)						
	0 mg cm <sup>-2</sup>		2,5 mg cm <sup>-2</sup>		5 mg cm <sup>-2</sup>		
	Controle	Folha	Solo	Folha/Solo	Folha	Solo	Folha/Solo
pH H <sub>2</sub> O	7,5	7,5	7,6	7,7	7,5	7,7	7,9
P (mg dm <sup>-3</sup> )	28,0	21,2	23,9	27,1	26,6	38,1	42,2
K (mg dm <sup>-3</sup> )	58,0	58,0	66,0	61,0	64,0	68,0	68,0
Ca <sup>+2</sup> (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	17,7	16,6	18,0	15,2	16,7	16,7	16,9
Mg <sup>+2</sup> (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	1,3	1,3	1,3	1,1	1,3	1,2	1,3
Al <sup>+3</sup> (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
H+Al (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	0,8	1,0	0,8	0,5	0,8	0,8	0,0
SB (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	19,2	18,1	19,5	16,5	18,2	18,1	18,4
CTC <sub>i</sub> (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	19,2	18,1	19,5	16,5	18,2	18,1	18,4
CTC <sub>T</sub> (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	20,0	19,1	20,4	17,0	19,1	19,0	18,4
V (%)	96,0	95,0	96,0	97,0	96,0	96,0	100,0
m (%)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Zn (mg dm <sup>-3</sup> )	11,5	11,9	12,9	10,0	12,1	12,3	12,3
Fe (mg dm <sup>-3</sup> )	28,2	30,2	45,5	45,5	37,8	41,6	35,9
Mn (mg dm <sup>-3</sup> )	31,9	33,3	52,3	51,4	47,9	49,6	60,2
Cu (mg dm <sup>-3</sup> )	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
S (mg dm <sup>-3</sup> )	38,2	28,2	33,8	29,6	32,4	63,9	42,9

Amostras compostas (n = 4). Legenda: (SB) soma de bases trocáveis, (CTC<sub>i</sub>) capacidade de troca catiônica efetiva, (CTC<sub>T</sub>) capacidade de troca catiônica a pH 7,0; (V) índice de saturação de bases, (m) índice de saturação de alumínio e (n.d.) não detectado.



Tabela 4. Teores de Ca e Fe na matéria seca das folhas de *Guazuma ulmifolia*, *Myracrodruon urundeuva* e *Trichilia hirta*, após 60 dias de exposição a diferentes concentrações de material particulado de cimento, aplicadas sobre a superfície foliar (Folha); sobre o solo (Solo) e sobre a superfície foliar e solo (Folha/Solo).

Concentração (mg cm <sup>-2</sup> )	Local	Ca (g kg <sup>-1</sup> )			Fe (mg kg <sup>-1</sup> )		
		<i>G. ulmifolia</i>	<i>M. urundeuva</i>	<i>T. hirta</i>	<i>G. ulmifolia</i>	<i>M. urundeuva</i>	<i>T. hirta</i>
0		16,5 ± 1,4	15,5 ± 1,4	16,3 ± 0,6	193,8 ± 32,3	568,0 ± 58,8 Aa	363,5 ± 17,1 Aa
2,5	Folha	19,6 ± 1,0	13,1 ± 0,8	15,3 ± 0,7	74,0 ± 7,0	225,0 ± 10,7 Bb	85,0 ± 13,4 Bb
	Solo	17,8 ± 1,2	13,6 ± 1,8	15,6 ± 1,3	128,5 ± 10,1	616,0 ± 105,8 Aa	351,3 ± 41,8 Aa
	Folha/Solo	19,9 ± 1,2	14,2 ± 1,4	17,2 ± 0,6	56,5 ± 2,0	228,0 ± 17,9 Bb	73,8 ± 4,0 Bb
5	Folha	21,0 ± 1,2	16,6 ± 0,6	17,3 ± 0,9	70,8 ± 4,2	220,5 ± 30,8 Bb	81,5 ± 8,4 Bb
	Solo	19,3 ± 1,5	15,8 ± 0,9	15,0 ± 0,6	123,0 ± 13,7	719,3 ± 80,6 Aa	426,3 ± 64,4 Aa
	Folha/Solo	20,5 ± 0,4	17,5 ± 2,2	17,5 ± 1,0	68,5 ± 2,8	225,0 ± 23,4 Bb	64,0 ± 8,1 Bb
Análise de variância							
Concentração		*	n.s.	n.s.	*	*	*
Local		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*	*
Concentração x Local		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*	*

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem pelo teste de Newman-Keuls a 5% de probabilidade. Ao fixar uma concentração, letras maiúsculas comparam os locais, e ao fixar um local, letras minúsculas comparam as concentrações, quando há interação significativa (\*) entre a concentração e o local de aplicação da poeira de cimento. Médias ± erro padrão (n = 4). Não significativo (n.s.).

Tabela 5. Teores de pigmentos fotossintéticos (clorofila *a* - Chl *a*, clorofila *b* - Chl *b* e carotenoides - Car) de folhas de *Guazuma ulmifolia*, *Myracrodruon urundeuva* e *Trichilia hirta*, ao final dos experimentos com deposição particulada de cimento.

Concentração (mg cm <sup>-2</sup> )	Chl <i>a</i> (mg g <sup>-1</sup> FM)			Chl <i>b</i> (mg g <sup>-1</sup> FM)			Car (mg g <sup>-1</sup> FM)		
	<i>G. ulmifolia</i>	<i>M. urundeuva</i>	<i>T. hirta</i>	<i>G. ulmifolia</i>	<i>M. urundeuva</i>	<i>T. hirta</i>	<i>G. ulmifolia</i>	<i>M. urundeuva</i>	<i>T. hirta</i>
0	0,394 ± 0,006	0,762 ± 0,048 a	0,328 ± 0,012	0,357 ± 0,009 b	0,602 ± 0,055 a	0,236 ± 0,006 b	0,443 ± 0,008	0,754 ± 0,034 a	0,438 ± 0,019
2,5	0,371 ± 0,023	0,694 ± 0,029 ab	0,338 ± 0,016	0,334 ± 0,021 b	0,536 ± 0,031 ab	0,271 ± 0,010 a	0,429 ± 0,023	0,685 ± 0,031 ab	0,429 ± 0,021
5	0,429 ± 0,017	0,613 ± 0,023 b	0,349 ± 0,017	0,424 ± 0,024 a	0,452 ± 0,019 b	0,280 ± 0,011 a	0,443 ± 0,018	0,630 ± 0,029 b	0,440 ± 0,025
Análise de variância									
Concentração	n.s.	*	n.s.	*	*	*	n.s.	*	n.s.
Local	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Concentração x Local	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem pelo teste de Newman-Keuls. (\*) Nível de significância:  $p \leq 0,05$ . (n.s.) Não significativo. Médias ± erro padrão (n = 4 para a concentração 0 mg cm<sup>-2</sup> e n = 12 para as concentrações 2,5 e 5 mg cm<sup>-2</sup>, estando os dados relativos ao local agrupados dentro de cada concentração, por não apresentarem diferença estatística significativa).

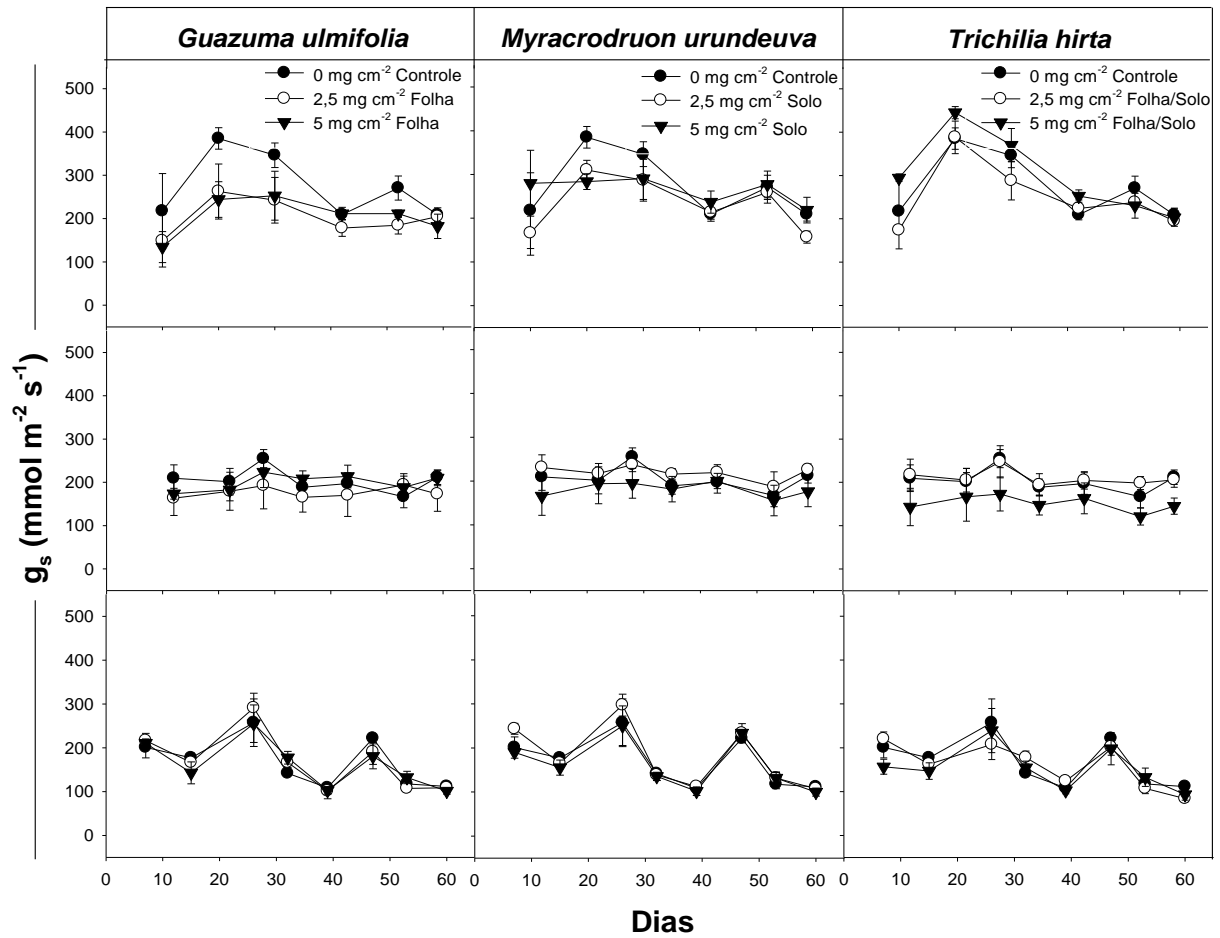


Figura 1. Condutância estomática das folhas de *Guazuma ulmifolia*, *Myracrodruon urundeuva* e *Trichilia hirta* ao longo de 60 dias de exposição à poeira de cimento nas concentrações de 0; 2,5 e 5  $\text{mg cm}^{-2}$ , aplicadas sobre a superfície foliar (Folha); sobre o solo (Solo) e sobre a superfície foliar e solo (Folha/Solo). Os pontos representam a média  $\pm$  erro padrão (n = 4).

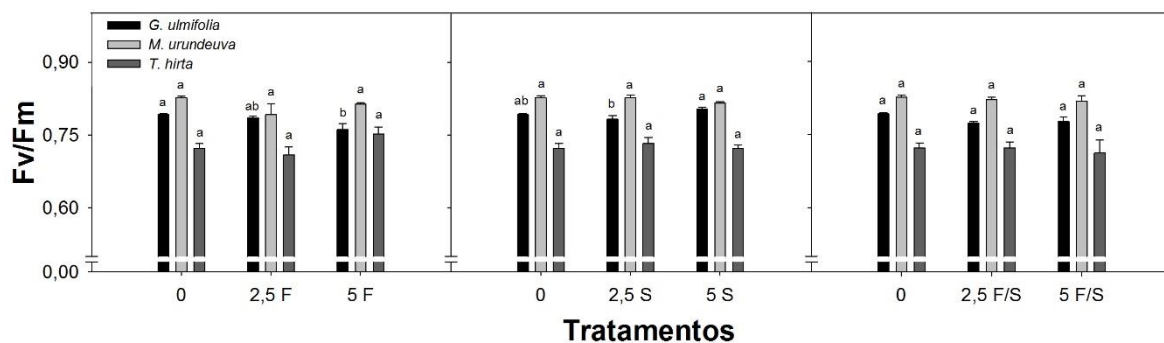


Figura 2. Efeito da poeira de cimento no rendimento quântico potencial do fotossistema II (Fv/Fm) das folhas de *Guazuma ulmifolia*, *Myracrodruon urundeuva* e *Trichilia hirta*, após 60 dias de exposição às concentrações de 0; 2,5 e 5 mg cm<sup>-2</sup> de cimento, aplicadas sobre a superfície foliar (F); sobre o solo (S) e sobre a superfície foliar e solo (F/S). Médias seguidas por letras idênticas, no mesmo local, para uma mesma espécie, não diferem entre si pelo teste de Newman-Keuls a 5% de probabilidade. Barras verticais representam a média ± erro padrão (n = 4).

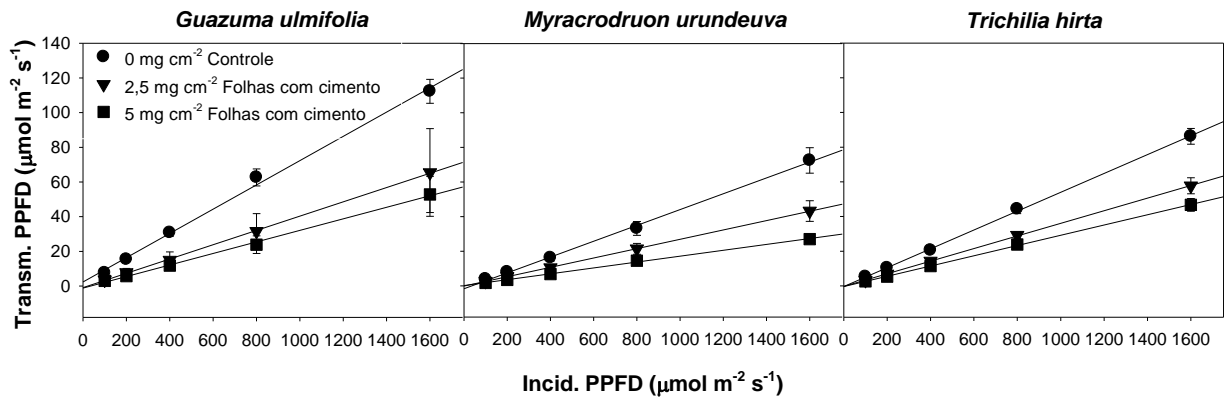


Figura 3. Densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos incidentes (Incid. PPFD) e transmitidos (Transm. PPFD) em folhas de *Guazuma ulmifolia*, *Myracrodruon urundeuva* e *Trichilia hirta* com (▼ e ■) e sem (●) cimento, após deposição da poeira nas concentrações de 0 (●); 2,5 (▼) e 5 mg cm<sup>-2</sup> (■), por um período de 60 dias. Equações de regressão dos tratamentos ( $R^2 = 0,99$ ): *G. ulmifolia* - (●)  $y = 0,0700x + 2,3297$ ; (▼)  $y = 0,0412x - 0,8866$ ; (■)  $y = 0,0333x - 1,1923$ ; *M. urundeuva* - (●)  $y = 0,0457x - 1,6409$ ; (▼)  $y = 0,0270x - 0,1186$ ; (■)  $y = 0,0170x + 0,1830$  e *T. hirta* - (●)  $y = 0,0544x - 0,3692$ ; (▼)  $y = 0,0363x - 0,2279$ ; (■)  $y = 0,0295x - 0,3104$ . Os pontos representam a média  $\pm$  erro padrão ( $n = 4$ ).

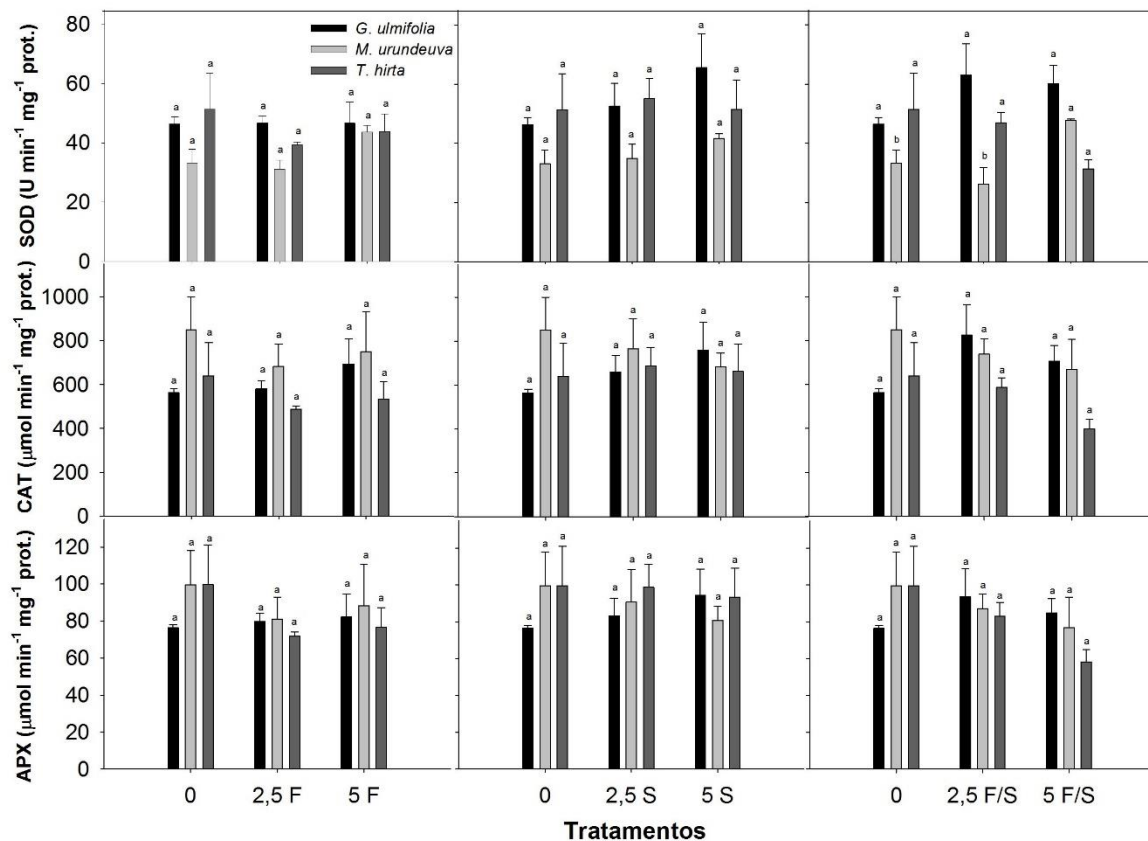


Figura 4. Efeito da poeira de cimento nas atividades de enzimas do sistema antioxidante (superóxido dismutase - SOD, catalase - CAT e ascorbato peroxidase - APX) de folhas de *Guazuma ulmifolia*, *Myracrodruon urundeuva* e *Trichilia hirta*, após 60 dias de exposição às concentrações de 0; 2,5 e 5 mg cm<sup>-2</sup> de cimento aplicadas sobre a superfície foliar (F); sobre o solo (S) e sobre a superfície foliar e solo (F/S). Médias seguidas por letras idênticas na horizontal, para um local fixo de aplicação da poeira de cimento, considerando mesma espécie e enzima, não diferem entre si pelo teste de Newman-Keuls a 5% de probabilidade. Barras verticais representam a média ± erro padrão (n = 4).

#### 4. Discussão

Nas três espécies vegetais estudadas houve redução do conteúdo foliar de Fe em resposta à poeira de cimento, resultando em valores críticos deste elemento (50-150 mg kg<sup>-1</sup> de massa seca) em *G. ulmifolia* e *T. hirta*, considerados como limites de deficiência nutricional para um grande número de espécies (Broadley et al., 2012), ao contrário do observado por Mandre e Lukjanova (2011) em *P. sylvestris* e Bujokas et al., (2010) em *Schinus terebinthifolius* Raddi. Mutlu et al. (2013), ao analisarem o teor de elementos minerais nas folhas de espécies exóticas ocorrendo no entorno de uma indústria cimenteira relataram que a poeira de cimento induz deficiência nutricional de Fe, em função da alcalinidade do solo.

Entretanto, no presente estudo, não foi observada para as três espécies vegetais dos tratamentos controle e também Solo (*M. urundeuva* e *T. hirta*) redução foliar de Fe em função do pH do solo, fato bastante comum em plantas crescendo em ambientes com pH acima de 7 (George et al., 2012), condição na qual a solubilidade do Fe é baixa (Mandre e Lukajanova, 2011; Broadley et al., 2012). Provavelmente o desequilíbrio nutricional de Fe nos demais tratamentos foi provocado por uma menor translocação deste elemento para a parte aérea da planta, via fluxo transpiratório, em razão da formação da crosta de cimento na superfície foliar, redução da luz transmitida e estresse gerado pelo contato direto do poluente com as folhas.

Praticamente não houve assimilação foliar dos elementos minerais (Eichert e Fernández, 2012) presentes na poeira de cimento depositada na parte aérea das espécies vegetais estudadas, em razão dos resultados nutricionais obtidos, principalmente para os elementos Fe e Ca. O pH da aplicação foliar, no presente estudo alcalino em função da composição química da poeira de cimento umedecida, pode afetar a taxa de penetração dos nutrientes e o grau de fitotoxicidade dos tratamentos (Eichert e Fernández, 2012). O aumento no teor foliar de Ca em todos os tratamentos de *G. ulmifolia* que receberam a poeira pode ser resultado do maior aporte de Ca, principal constituinte da poeira de cimento (44%), via assimilação foliar e/ou absorção pelas raízes. O transporte de elementos minerais dentro dos tecidos vegetais e a sua translocação para os diferentes órgãos, depende da mobilidade e solubilidade dos mesmos (Mandre e Ots, 2012).

Embora a poeira de cimento apresente uma variedade de elementos químicos, estes estão em uma forma oxidada (Mandre e Korsjukov, 2007), não biodisponível, o que pode resultar em absorção mínima pelas plantas. Somado a este fato, em solos com pH elevado, muitos nutrientes tornam-se indisponíveis para as espécies que crescem nestes ambientes (Mandre e Tuulmets, 1997).

O bloqueio da luz pela crosta de cimento, o estresse gerado pelo contato direto da poeira com as folhas e a redução foliar de Fe, elemento essencial na síntese de clorofila (Mandre e Tuulmets, 1997; Mandre e Lukjanova, 2011; Lizieri et al., 2012), podem ter provocado as alterações nos teores de pigmentos fotossintéticos das espécies avaliadas. Segundo Abril et al. (2014), a deposição de poeira sobre a parte aérea das plantas, altera as propriedades ópticas e a intensidade de luz disponível para o processo fotossintético. Em *Picea abies* (L.) H. Karst. o teor de clorofila diminuiu após exposição das plantas ao material particulado emitido pela indústria cimenteira (Lukjanova et al., 2013), em função do aumento de danos nas células do mesofilo. As variações observadas entre a quantidade de cimento depositada na superfície foliar das espécies, e conseqüentemente, a intensidade de luz bloqueada pelo poluente, foram provavelmente devido à fatores como pilosidade, rugosidade, ângulo de inserção da folha no eixo caulinar e umidade do ar.

Em geral, as condições de sombreamento impostas pela poeira de cimento depositada na superfície foliar não provocaram danos acentuados no fotossistema II e nem redução na condutância estomática das espécies avaliadas, indicando que a disponibilidade de luz não foi um fator limitante. A localização dos estômatos principalmente na face abaxial da lâmina foliar pode ter contribuído na redução de danos estruturais e menor obliteração do poro estomático pela poeira (Dados apresentados no item 3.3 do capítulo III), e conseqüentemente, constância nos valores de  $g_s$ .

O Fe é elemento componente de diversas enzimas (Broadley et al., 2012). Embora tenha ocorrido menor teor foliar deste elemento nas plantas que receberam a poeira, as atividades de enzimas antioxidantes não variaram expressivamente com a exposição de *G. ulmifolia* e *T. hirta* aos tratamentos impostos. Em contraste, a atividade da enzima SOD aumentou consideravelmente em *M. urundeuva* sob tratamento simultâneo dos folíolos e do solo em que foi cultivada com  $5 \text{ mg cm}^{-2}$  de cimento. Este resultado é um indicativo de que o tratamento com cimento pode ter acentuado a produção de ânion superóxido ( $\text{O}_2^-$ ) nas células foliares de *M. urundeuva*. Assim, o aumento da atividade SOD compreendeu um mecanismo de defesa das plantas na tentativa de diminuir os níveis de  $\text{O}_2^-$  e prevenir uma possível oxidação de proteínas e lipídios (Hung et al., 2005). No entanto, não é possível afirmar que os níveis de ROS em folhas de *G. ulmifolia* e *T. hirta* permaneceram inalterados após o tratamento com cimento, visto que células vegetais também apresentam mecanismos não enzimáticos de controle dos níveis de espécies oxidantes (Apel e Hirt, 2004). Além disso, vários trabalhos reportam que estresses abióticos (Schützendübel e Polle, 2002; Pereira et al., 2009), entre estes, a poeira de cimento (Erdal e Demirtas, 2010; Salama et al., 2011; Dziri e Hosni, 2012), podem influenciar ou não



as atividades de enzimas do sistema antioxidante em plantas, de acordo com a espécie, estágio de desenvolvimento, distância da fonte emissora, intensidade e duração do estresse.

O estudo de variáveis fisiológicas e bioquímicas de plantas é indispensável para estabelecer o grau de tolerância e seletividade de espécies a ambientes impactados, contribuindo para trabalhos de biomonitoramento e biorremediação (Lizieri et al., 2012), bem como de reflorestamento das áreas ao redor de indústrias cimenteiras. Embora as três espécies vegetais estudadas tenham apresentado pequenas variações em suas respostas frente ao poluente, *G. ulmifolia*, *M. urundeuva* e *T. hirta* podem ser consideradas tolerantes à poeira de cimento, por um período mínimo de 60 dias de exposição.

## 5. Conclusões

Em *G. ulmifolia*, *M. urundeuva* e *T. hirta*, a exposição à poeira de cimento causou bloqueio de parte da luz incidente, alterações nos teores de pigmentos fotossintéticos e de nutrientes foliares, com redução acentuada no teor de Fe. Em *G. ulmifolia* houve elevação do teor foliar de Ca e queda no rendimento quântico potencial do fotossistema II. Nas três espécies estudadas, os valores de condutância estomática e das atividades das enzimas do sistema antioxidante não variaram, exceto para a enzima superóxido dismutase em *M. urundeuva* na concentração máxima de cimento aplicada sobre a superfície foliar e solo, a qual teve sua atividade elevada. Os resultados indicaram que as espécies *G. ulmifolia*, *M. urundeuva* e *T. hirta* são tolerantes à poeira de cimento, por período mínimo de 60 dias de exposição. Também mostraram que as mesmas apresentam potencial de uso na revegetação de áreas impactadas pelas atividades de indústrias cimenteiras.

## Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento da pesquisa (473261/2010-3) e pela bolsa de doutoramento concedida ao primeiro autor. À Josiane A. T. Oliveira pela ajuda na condução e coleta dos experimentos. À Raquel O. Faria pela assistência nas análises enzimáticas. Ao Centro de Microscopia da Universidade Federal de Minas Gerais (<http://www.microscopia.ufmg.br>) por fornecer equipamentos e suporte técnico para as análises ultraestruturais.

## Referências bibliográficas

- Abdul-Wahab, S.A., 2006. Impact of fugitive dust emissions from cement plants on nearby communities. *Ecological Modelling* 195, 338-348.
- Abril, G.A., Wannaz, E. D., Mateos, A. C., Pignata, M. L., 2014. Biomonitoring of airborne particulate matter emitted from a cement plant and comparison with dispersion modelling results. *Atmospheric Environment* 82, 154-163.
- Apel, K., Hirt, H., 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology* 55, 373-399.
- Araújo Neto, J.C., Aguiar, I.B., 2000. Germinative pretreatments to dormancy break in *Guazuma ulmifolia* Lam. seeds. *Scientia Forestalis* 58, 15-24.
- Bhaduri, A.M., Fulekar, M.H., 2012. Antioxidant enzyme responses of plants to heavy metal stress. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* 11, 55-69.
- Bhatty, J.I., 1995. Role of minor elements in cement manufacture and use. *Research and Development Bulletin RD109T*. Portland Cement Association, Skokie, Illinois, USA.
- Branquinho, C., Gaio-Oliveira, G., Augusto, S., Pinho, P., Má-Guas, C., Correia, O., 2008. Biomonitoring spatial and temporal impact of atmospheric dust from a cement industry. *Environmental Pollution* 151, 292-299.
- Broadley, M., Brown, P., Cakmak, I., Rengel, Z., Zhao, F., 2012. Function of nutrients: Micronutrients, in: Marschner, P. (Ed.), *Mineral nutrition of higher plants*, Academic Press, San Diego, pp. 191-248.
- Bujokas, W.M., Martins, K.G., Marques, R., 2010. Crescimento, teores de clorofila e de bioelementos em indivíduos jovens de *Schinus terebinthifolius* expostos à poeira de cimento. *Floresta* 40, 523-534.
- Demir, T.A., Akar, T., Akyüz, F., Işikli, B., Kanbak, G., 2005. Nickel and cadmium concentrations in plasma and Na<sup>+</sup>/ K<sup>+</sup> ATPase activities in erythrocyte membranes of the people exposed to cement dust emissions. *Environmental Monitoring and Assessment* 104, 437-444.
- Dziri, S., Hosni, K., 2012. Effects of cement dust on volatile oil constituents and antioxidative metabolism of Aleppo pine (*Pinus halepensis*) needles. *Acta Physiologiae Plantarum* 34, 1669-1678.
- Eichert, T., Fernández, V., 2012. Uptake and release of elements by leaves and other aerial plant parts, in: Marschner, P. (Ed.), *Mineral nutrition of higher plants*, Academic Press, San Diego, pp. 71-84.
- Erdal, S., Demirtas, A., 2010. Effects of cement flue dust from a cement factory on stress parameters and diversity of aquatic plants. *Toxicology and Industrial Health* 26, 339-343.

- Farmer, A.M., 1993. The effects of dust on vegetation - a review. *Environmental Pollution* 79, 63-75.
- George, E., Horst, W.J., Neumann, E., 2012. Adaptation of plants to adverse chemical soil conditions, in: Marschner, P. (Ed.), *Mineral nutrition of higher plants*, Academic Press, San Diego, pp. 409-472.
- Grantz, D.A., Garner, J.H.B., Johnson, D.W., 2003. Ecological effects of particulate matter. *Environment International* 29, 213-239.
- Hirano, T., Kiyota, M., Aiga, I., 1995. Physical effects of dust on leaf physiology of cucumber and kidney bean plants. *Environmental Pollution* 89, 255-261.
- Hung, S.-H., Yu, C.-W., Lin, C.H., 2005. Hydrogen peroxide functions as a stress signal in plants. *Botanical Bulletin of Academia Sinica* 46, 1-10.
- Işikli, B., Demir, T.A., Akar, T., Berber, A., Ürer, S.M., Kalyoncu, C., Canbek, M., 2006. Cadmium exposure from the cement dust emissions: A field study in a rural residence. *Chemosphere* 63, 1546-1552.
- Lau, O.W., Luk, S.F., 2001. Leaves of *Bauhinia blakeana* as indicators of atmospheric pollution in Hong Kong. *Atmospheric Environment* 35, 3113-3120.
- Lee, D.S., Pacyna, J.M., 1999. An industrial emissions inventory of calcium for Europe. *Atmospheric Environment* 33, 1687-1697.
- Lizieri, C., Kuki, K.N., Aguiar, R., 2012. The morphophysiological responses of free-floating aquatic macrophytes to a supra-optimal supply of manganese. *Water, Air and Soil Pollution* 223, 2807-2820.
- Lorenzi, H., 1998. *Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*, Instituto Plantarum, São Paulo.
- Lorenzi, H., Matos, F.J.A., 2008. *Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas*, Instituto Plantarum, São Paulo, 544 p.
- Lukjanova, A., Mandre, M., 2010. Effects of alkalization of the environment on the anatomy of Scots pine (*Pinus sylvestris*) needles. *Water, Air and Soil Pollution* 206, 13-22.
- Lukjanova, A., Mandre, M., Saarman, G., 2013. Impact of alkalization of the soil on the anatomy of Norway spruce (*Picea abies*) needles. *Water, Air and Soil Pollution* 224, 1-12.
- Mandre, M., Tuulmets, L., 1997. Pigments changes in Norway spruce induced by dust pollution. *Water Air and Soil Pollution* 94, 247-258.
- Mandre, M., Korsjukov, R., 2007. The quality of stemwood of *Pinus sylvestris* in an alkalisied environment. *Water, Air and Soil Pollution* 182, 163-172.
- Mandre, M., Lukjanova, A., 2011. Biochemical and structural characteristics of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in an alkaline environment. *Estonian Journal of Ecology* 60, 264-283.

- Mandre, M., Ots, K. 2012. Monitoring of heavy metals uptake and allocation in *Pinus sylvestris* organs in alkalised soil. *Environmental Monitoring and Assessment* 184, 4105-4117.
- Mandre, M., 2014. Heavy metals uptake and accumulation by the hybrid aspen in alkalised soil. *Water, Air and Soil Pollution* 225, 1808. DOI 10.1007/s11270-013-1808-6
- Mutlu, S., Atici, Ö., Gülen, Y., 2013. Cement dust pollution induces toxicity or deficiency of some essential elements in wild plants growing around a cement factory. *Toxicology and Industrial Health* 29, 474-480.
- Nanos, G.D., Ilias, I.F., 2007. Effects of inert dust on olive (*Olea europaea* L.) leaf physiological parameters. *Environmental Science and Pollution Research* 14, 212-214.
- Ogunbileje, J.O., Sadagoparamanujam, V.-M., Anetor, J.I., Farombi, E.O., Akinosum, O.M., Okorodudu, A.O., 2013. Lead, mercury, cadmium, chromium, nickel, copper, zinc, calcium, iron, manganese and chromium (VI) levels in Nigeria and United States of America cement dust. *Chemosphere* 90, 2743-2749.
- Oliveira-Filho, A.T., 2006. Catálogo das árvores nativas de Minas Gerais: mapeamento e inventário da flora nativa e dos reflorestamentos de Minas Gerais. Lavras, Editora UFLA, 423 p.
- Paal, J., Degtjarenko, P., Suija, A., Liira, J., 2013. Vegetation responses to long-term alkaline cement dust pollution in *Pinus sylvestris*-dominated boreal forests - niche breadth along the soil pH gradient. *Applied Vegetation Science* 16, 248-259.
- Pereira, E.G., Oliva, M.A., Kuki, K.N., Cambraia, J., 2009. Photosynthetic changes and oxidative stress caused by iron ore dust deposition in the tropical CAM tree *Clusia hilariana*. *Trees - Structure and Function* 23, 277-285.
- Rodrigues, F.A., Joekes, I., 2011. Cement industry: sustainability, challenges and perspectives. *Environmental Chemistry Letters* 9, 151-166.
- Salama, H.M.H., Al-Rumaih, M.M., Al-Dosary, M.A., 2011. Effects of Riyadh cement industry pollutions on some physiological and morphological factors of *Datura innoxia* Mill. plant. *Saudi Journal of Biological Sciences* 18, 227-237.
- Schützendübel, A., Polle, A., 2002. Plant responses to abiotic stresses: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization. *Journal of Experimental Botany* 53, 1351-1365.
- Semhi, K., Al-Khirbash, S., Abdalla, O., Khan, T., Duplay, J., Chaudhuri, S., Al-Saidi, S., 2010. Dry atmospheric contribution to the plant-soil system around a cement factory: spatial variations and sources - a case study from Oman. *Water, Air and Soil Pollution* 205, 343-357.

## CAPÍTULO III

### **Alterações morfoanatômicas em folhas de três espécies lenhosas nativas em resposta à poeira de cimento**

#### **RESUMO**

Indústrias cimenteiras instaladas próximas às áreas de afloramentos calcários têm depositado poeira de cimento sobre espécies lenhosas nativas de Minas Gerais, Brasil. Objetivou-se caracterizar o efeito da deposição de poeira de cimento na estrutura foliar e ultraestrutura celular de *Guazuma ulmifolia* Lam. (Malvaceae), *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) e *Trichilia hirta* L. (Meliaceae). Durante 60 dias, as plantas foram submetidas às concentrações de 0; 2,5 e 5 mg cm<sup>-2</sup> de poeira de cimento aplicadas em dois momentos sobre a superfície foliar; sobre o solo e sobre a superfície foliar e solo, em condições de exposição controlada e solo padronizado. A exposição à poeira causou sintomas visuais como necroses foliares em *G. ulmifolia* e *T. hirta*, enrolamento da lâmina foliar em *M. urundeuva* e protuberâncias em *T. hirta*. Houve obliteração dos estômatos nas três espécies, abscisão foliar precoce (*T. hirta*), erosão da cera epicuticular (*M. urundeuva*) e alteração em seu padrão de deposição (*G. ulmifolia*), além de mudança na organização e conteúdo das células da nervura mediana, bem como no relevo celular (*T. hirta*). A nível ultraestrutural, as células do mesófilo apresentaram plastídios íntegros, sem sinais de desorganização no sistema de membranas. Os resultados indicaram que as três espécies vegetais foram afetadas pelo contato direto da poeira de cimento com a superfície foliar, não sendo possível estabelecer um biomarcador específico de tolerância para este tipo de estresse, em razão dos danos ocasionados pelo cimento nas folhas já terem sido amplamente relatados em resposta aos diferentes tipos de poluentes.

**Palavras-chave:** *Guazuma ulmifolia*, *Myracrodruon urundeuva*, *Trichilia hirta*, poluição, anatomia foliar.

## **Morpho-anatomical changes in leaves of three native woody species due to cement dust**

### **ABSTRACT**

Cement factories installed next to areas of limestone outcrops have been depositing cement dust on native woody species in Minas Gerais, Brazil. This study aimed to characterize the effect of the cement dust deposition on leaf structure and cell ultrastructure of *Guazuma ulmifolia* Lam. (Malvaceae), *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) and *Trichilia hirta* L. (Meliaceae). For 60 days the plants were subjected to cement dust concentrations 0; 2.5 and 5 mg cm<sup>-2</sup> applied at two times on the leaf surface; on the soil and the leaf surface and soil, in controlled exposure conditions and standardized soil. Exposure to the dust caused visual symptoms such as leaf necrosis in *G. ulmifolia* and *T. hirta*, leaf blade curling in *M. urundeuva* and bulges in *T. hirta*. There was obliteration of the stomata in all species, early leaf abscission (*T. hirta*), erosion of epicuticular wax (*M. urundeuva*) and change in its pattern of deposition (*G. ulmifolia*), besides change in the organization and contents of the cells of the median rib, as well as in cell relief (*T. hirta*). The ultrastructure of the mesophyll cells showed intact plastids without signs of disorganization in the membrane system. The results indicated that the three plant species were affected by direct contact of cement dust with the leaf surface, making it impossible to establish a specific biomarker of tolerance for this kind of stress, due to the damage caused by the cement on the leaves have already been amply reported in response to different types of pollutants.

**Keywords:** *Guazuma ulmifolia*, *Myracrodruon urundeuva*, *Trichilia hirta*, pollution, leaf anatomy.

## 1. Introdução

O cimento é a principal matéria-prima da construção civil, sendo produzido em quase toda parte do mundo (Rodrigues e Joekes, 2011). O Brasil ocupa a 6º posição no ranking mundial dos países com maior produção de cimento, e o estado de Minas Gerais abriga o maior número de indústrias neste setor, sendo contabilizadas 14 em plena operação no ano de 2012 (SNIC, 2013).

A indústria cimenteira é considerada uma das principais fontes de material particulado (Grantz et al., 2003; Demir et al., 2005; İşikli et al., 2006; Rodrigues e Joekes, 2011), sendo que a crescente produção e consumo deste produto no Brasil, principalmente nos últimos anos (SNIC, 2013), pode resultar em risco à vegetação nativa local, em especial das áreas de afloramentos calcários de Minas Gerais. Nestas áreas, estão presentes comumente as espécies *Guazuma ulmifolia*, *Myracrodruon urundeuva* e *Trichilia hirta* (Oliveira-Filho, 2006), as quais foram selecionadas para o presente estudo.

*G. ulmifolia* Lam. (Malvaceae) é uma planta semidecídua, heliófita, pioneira, de folhas simples, pubescentes e medicinais, de crescimento rápido e de grande aplicabilidade em reflorestamentos, cujo lenho produz excelente carvão (Lorenzi, 1998; Lorenzi e Matos, 2008). De acordo com estes autores, *M. urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) é uma espécie decídua, heliófita, de folhas compostas imparipinadas, pubescentes e medicinais, possuindo madeira de grande resistência mecânica; e *T. hirta* L. (Meliaceae) é uma espécie semidecídua, heliófita, de folhas compostas imparipinadas, pioneira e rústica, indicada para áreas degradadas, cuja madeira é utilizada na marcenaria e os frutos são consumidos por pássaros.

O entendimento dos efeitos dos poluentes atmosféricos sobre as plantas distribuídas em campo, em muitos momentos é dificultado pela interação de vários fatores ambientais e classes de contaminantes (Dickison, 2000), o que reforça a importância prévia de estudos em condições controladas, principalmente quando relacionado às indústrias cimenteiras. Somado à poeira, com elevado teor de cálcio em sua composição (Lee e Pacyna, 1999; Branquinho et al., 2008), as indústrias cimenteiras liberam no meio ambiente grande variedade de metais pesados (Ogunbileje et al., 2013), assim como dióxido de carbono, dibenzo-p-dioxinas (PCDD), dibenzofuranos (PCDF), entre outros poluentes (Rodrigues e Joekes, 2011), dependendo da matéria-prima e do combustível utilizado na produção do cimento (Bhatty, 1995). Entretanto, Sant'Anna-Santos et al. (2014) ressaltam a importância de comparar os resultados obtidos em laboratório com os de campo, antes de indicar possíveis biomarcadores estruturais em resposta a determinado poluente.

Os impactos do material particulado em suspensão sobre a vegetação dependem da sua composição química, estrutural e da intensidade e distância da fonte emissora, bem como do grau de tolerância da planta e da morfologia foliar, entre outros fatores (Farmer, 1993; Grantz et al., 2003). A folha, principal órgão fotossintético, com papel fundamental no crescimento e desenvolvimento das plantas (Mandre et al., 2012) é o órgão mais sensível à poluição (Dickson, 2000), o que induz a sua escolha nestes tipos de estudos. A incidência e o grau de injúria foliar em resposta ao poluente está relacionada a variáveis como capacidade de umedecimento foliar e de penetração do poluente via cutícula e estômatos, bem como pilosidade, espessura da parede celular, padrão de deposição das ceras epicuticulares, idade da planta, entre outras variáveis (Dickson, 2000).

Estudos estruturais e ultraestruturais são essenciais no esclarecimento da fitotoxicidade dos diferentes tipos de poluentes (Sant'Anna-Santos et al., 2012), incluindo a poeira de cimento. A exposição de plantas à poeira de cimento causou obliteração dos estômatos, reduções nas taxas de crescimento vegetativo e reprodutivo, clorose e necrose foliar, perda de turgor, morte celular, senescência foliar, entre outros sintomas (Farmer, 1993). Houve também redução na espessura do mesofilo em *Pinus sylvestris* L. (Lukjanova e Mandre, 2010; Mandre e Lukjanova, 2011) e *Populus tremula* x *P. tremuloides* Michx. (Mandre et al., 2012), bem como em variáveis morfológicas de *Datura innoxia* Mill. (Salama et al., 2011). Em plantas submetidas a diferentes agentes estressores também foram constatadas variações no tamanho de grãos de amido e plastoglobulos contidos nos cloroplastos (Anttonen e Kärenlampi, 1996; Baek e Woo, 2010).

As respostas das espécies vegetais aos poluentes podem ser empregadas em programas de biomonitoramento da qualidade do ar, permitindo a delimitação de áreas impactadas e a detecção de níveis crônicos de poluentes, bem como a avaliação de riscos impostos à vegetação (Silva e Morais, 2013). A sensibilidade das plantas à poeira de cimento é variável e há grande contradição na literatura do seu real impacto (Mandre e Lukjanova, 2011), o que indica a necessidade de mais estudos, principalmente em condições controladas, em função dos resultados *in situ* obtidos até o presente momento.

Os objetivos do presente estudo foram avaliar os efeitos da poeira de cimento na organização estrutural e ultraestrutural das folhas de *G. ulmifolia*, *M. urundeuva* e *T. hirta*. Os resultados encontrados poderão contribuir na seleção de espécies vegetais a serem empregadas no reflorestamento de áreas impactadas por indústrias cimenteiras, bem como na identificação de marcadores biológicos para este tipo de estresse.



## **2. Material e Métodos**

### **2.1. Cultivo das plantas**

As condições de cultivo das plantas foram as mesmas descritas no item 2.1 dos Capítulos I e II.

### **2.2. Aplicação da poeira de cimento**

Os tratamentos e as condições experimentais de aplicação da poeira de cimento foram os mesmos descritos no item 2.2 do Capítulo I.

As espécies vegetais foram expostas à poeira de cimento por um período de 60 dias.

### **2.3. Sintomatologia visual**

Ao longo dos experimentos, os sintomas visuais nas folhas de *G. ulmifolia*, *M. urundeuva* e *T. hirta* em resposta à poeira de cimento, foram registrados e fotografados.

### **2.4. Microscopia de luz**

Ao final dos experimentos, amostras de folhas totalmente expandidas do 3º (*G. ulmifolia*) e 4º nós (*M. urundeuva* e *T. hirta*), desenvolvidas após aplicação dos tratamentos e aparentemente saudáveis, foram utilizadas para as análises em microscopia de luz, conforme metodologia descrita no primeiro parágrafo do item 2.5 do Capítulo I.

### **2.5. Microscopia eletrônica de varredura e transmissão**

Ao término dos experimentos, amostras de folhas totalmente expandidas do 3º nó (*G. ulmifolia*, *M. urundeuva* e *T. hirta*), desenvolvidas após aplicação dos tratamentos e aparentemente saudáveis, foram utilizadas para as análises em microscopia eletrônica de varredura e transmissão, conforme metodologia descrita no item 2.6 do Capítulo I.

### 3. Resultados

#### 3.1. Sintomatologia visual após deposição da poeira de cimento

Nas espécies que receberam poeira de cimento na parte aérea (Fig. 1D-I) observou-se a formação de uma crosta sobre a superfície foliar. Ao longo dos experimentos não foi constatado surgimento de clorose nas folhas das três espécies (Fig. 1A-I), independente do tratamento aplicado.

A aplicação da poeira de cimento nas concentrações de 2,5 e 5 mg cm<sup>-2</sup> promoveu injúrias foliares (necroses) nas folhas de *G. ulmifolia* que se desenvolveram sobre a ação do poluente, situadas no 1° e 2° nós a partir da gema apical das plantas do tratamento Folha, o que não foi observado nos demais tratamentos. Os sintomas nesta espécie iniciaram após 44 dias da primeira aplicação de poeira e foram caracterizados por necroses foliares de coloração principalmente marrom estendendo-se a partir da margem e terço apical para toda lâmina foliar (Fig. 1G). Enrolamento da lâmina foliar de *M. urundeuva* no sentido da face abaxial ocorreu nos folíolos do 1° ao 4° nós a partir da gema apical das plantas do tratamento 5 mg cm<sup>-2</sup> Folha/Solo, após 60 dias da primeira aplicação de poeira (Fig. 1H). Nos primeiros dez dias posteriores à primeira deposição de cimento em *T. hirta*, plantas dos tratamentos 2,5 mg cm<sup>-2</sup> Folha e Folha/Solo, apresentaram mancha de queima (necrose) de coloração marrom no terço basal e mediano de alguns de seus folíolos (5° ao 6° nós a partir da gema apical), seguido de enrolamento e queda dos mesmos. Nesta mesma espécie, após 18 dias da primeira deposição, os folíolos que receberam cimento durante a fase de diferenciação celular apresentaram protuberâncias na face adaxial (Fig. 1I), principalmente na concentração máxima de poeira, fato este não observado nas demais espécies estudadas. As folhas dos tratamentos controle e Solo das três espécies avaliadas apresentaram ao final do experimento coloração verde brilhante típica, estando as plantas com aparência sadia.

#### 3.2. Organização estrutural

*G. ulmifolia* possui folha anfi-hipoestomática (predominância de estômatos na epiderme da face abaxial da folha, porém com ocorrência próximo à nervura mediana da face adaxial), epiderme unisseriada com tricomas, mesofilo dorsiventral, com duas a três camadas de parênquima paliçádico e duas a quatro camadas de parênquima lacunoso (Fig. 2A-D). Na nervura mediana e no mesofilo encontram-se cavidades secretoras e células com conteúdo

mucilaginoso, presentes principalmente na epiderme e camadas adjacentes, em ambas as faces do folíolo. Os feixes vasculares são colaterais, guarnecidos por camadas de fibras, com cristais prismáticos associados principalmente ao floema e à bainha do feixe vascular.

O folíolo de *M. urundeuva* é anfi-hipoestomático (predominância de estômatos na epiderme da face abaxial do folíolo, porém com ocorrência próximo à nervura mediana da face adaxial), apresenta epiderme unisseriada, mesofilo dorsiventral, com uma camada de parênquima paliçádico e três camadas de parênquima lacunoso (Fig. 2E e F). Apresenta feixe vascular colateral e idioblastos com drusas e cristais prismáticos, além de canais secretores associados ao floema, presentes principalmente na nervura mediana.

*T. hirta* possui folíolo anfi-hipoestomático (predominância de estômatos na epiderme da face abaxial do folíolo, porém com ocorrência próximo à nervura mediana da face adaxial), epiderme unisseriada, mesofilo dorsiventral, com uma camada de parênquima paliçádico e quatro a cinco camadas de parênquima lacunoso. Apresenta feixe vascular colateral envolto por fibras, e idioblastos cristalíferos contendo drusas (Fig. 2G e H).

Análises em microscopia de luz da lâmina foliar das três espécies vegetais (Fig. 2A-H) quando submetidas à poeira evidenciaram uma maior quantidade de células com conteúdo mais intensamente corado pelo azul de toluidina, provavelmente substâncias fenólicas (Fig. 2B, F e H). Em *M. urundeuva*, observou-se estruturas secretoras internas (canais) em diferentes etapas de desenvolvimento, a saber: canais em fase pós-secretora, com epitélio unisseriado e células vacuoladas nas plantas controle (Fig. 2E) e canais com epitélio desorganizado e de células com citoplasma denso, provavelmente em atividade secretora, nas plantas do tratamento 5 mg cm<sup>-2</sup> Folha (Fig. 2F). Em *T. hirta*, nas plantas que receberam poeira de cimento, ocorreu mudança na organização e conteúdo das células epidérmicas, colenquimáticas e corticais da nervura, como evidenciado para o tratamento 2,5 mg cm<sup>-2</sup> Folha (Fig. 2H), quando comparado ao grupo controle (Fig. 2G). Nestas plantas houve também aglomeração de drusas ao redor dos tecidos afetados pela poeira (Fig. 2H).

### **3.3. Alterações na micromorfologia da superfície foliar em resposta à poeira de cimento**

Em *G. ulmifolia*, em ambas as faces da folha, a epiderme apresenta tricomas tectores estrelados e tricomas glandulares (Fig. 3C), e na face adaxial, tricomas tectores simples. As faces adaxial e abaxial dos folíolos de *M. urundeuva* e *T. hirta* possuem tricomas tectores simples e tricomas glandulares. Ao final dos experimentos de alcalinização, não foram observadas alterações morfoanatômicas nos tricomas destas espécies.

Ao final dos experimentos, nos tratamentos em que a poeira de cimento entrou em contato com a superfície foliar, houve danos micromorfológicos na epiderme de ambas as faces da folha das três espécies avaliadas, quando comparadas às plantas controle (Fig. 3A-H). As espécies destes tratamentos apresentaram obliteração dos estômatos, como evidenciado nas Figuras 3B e F, o que não ocorreu nos tratamentos controle (Fig. 3A e E) e Solo, para as três espécies estudadas. Houve alteração no padrão de deposição da cera epicuticular em *G. ulmifolia* (Fig. 3D), bem como erosão da mesma, na face abaxial do folíolo de *M. urundeuva* (Fig. 3F), o que não foi encontrado em suas plantas controle (Fig. 3C e 3E), respectivamente. Em *T. hirta* após exposição da superfície foliar ao cimento houve alteração no relevo celular (Fig. 3H), em algumas regiões da lâmina, o que não foi observado nos tratamentos controle (Fig. 3G) e Solo.

### **3.4. Aspectos ultraestruturais das células do mesofilo em resposta à poeira de cimento**

Após aplicação dos tratamentos não foi observado nas folhas de *G. ulmifolia*, *M. urundeuva* e *T. hirta* danos ultraestruturais nas células epidérmicas e do mesofilo (Fig. 4A-F). Em *M. urundeuva*, o vacúolo das células do parênquima paliçádico apresentou-se repleto de substâncias fenólicas (Fig. 4C e D), e nas demais espécies teve conteúdo hialino, independente do tratamento aplicado.

Nos cloroplastos não foram observados sinais de desorganização no sistema de membranas (Fig. 4A-F). Nestas organelas, os tilacóides granais e intergranais mostraram-se intactos e o estroma uniforme e de aspecto normal. Os grãos de amido apresentaram formato lenticular, com plastoglóbulos globosos (Fig. 4A-F), independente dos tratamentos e espécies analisadas.

Durante as análises de ultraestrutura observou-se, entre os diferentes tratamentos e espécies, uma tendência de variação na área ocupada pelos grãos de amido e plastoglóbulos nos plastídios.

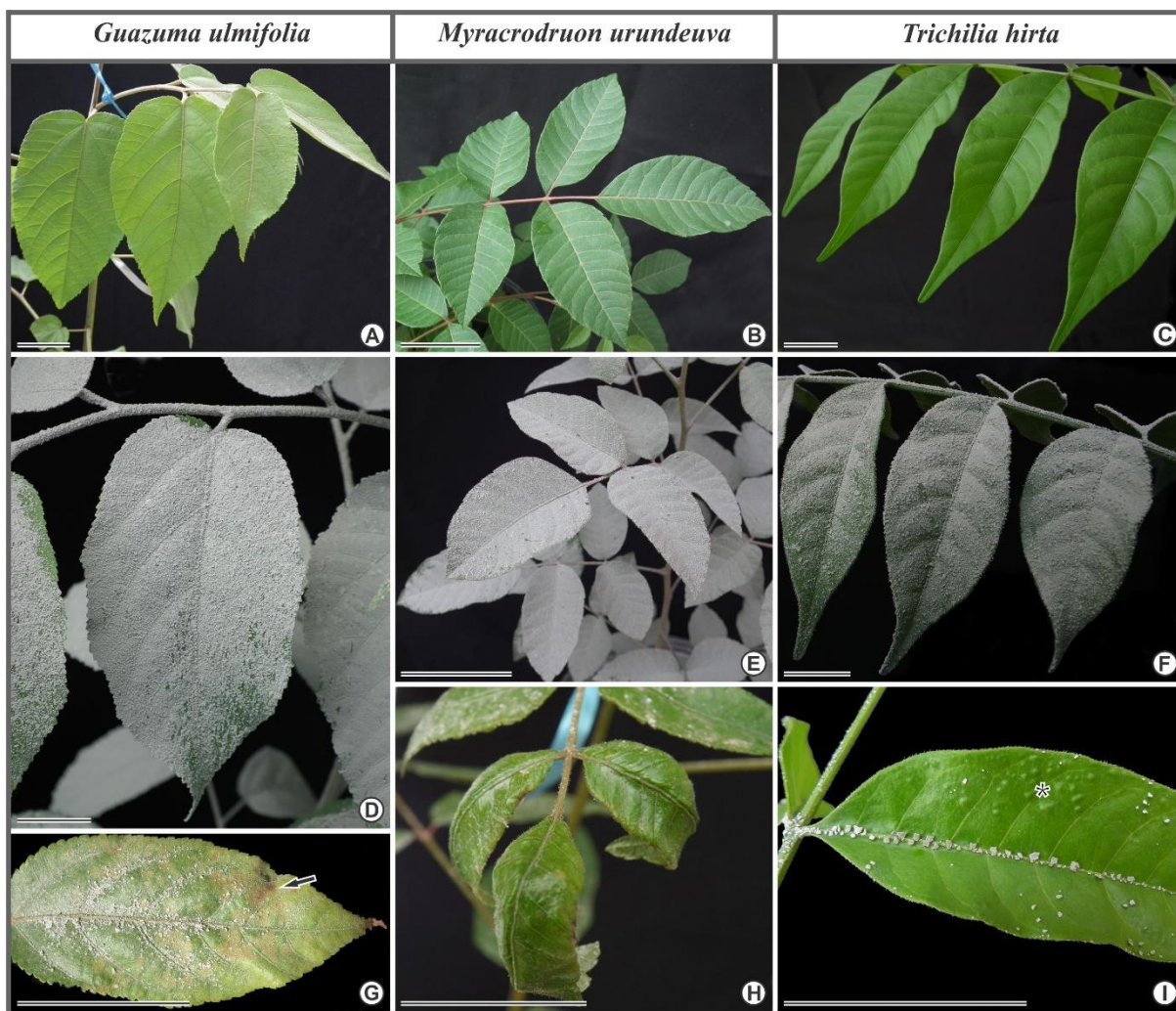


Figura 1. Folhas de *Guazuma ulmifolia* (A, D e G), folíolos de *Myracrodruon urundeuva* (B, E e H) e *Trichilia hirta* (C, F e I) dos tratamentos controle (A-C), 5 mg cm<sup>-2</sup> Folha/Solo (D, F, H e I) e 2,5 mg cm<sup>-2</sup> Folha/Solo (E) e Folha (G) de material particulado de cimento. Registros efetuados após o 1º dia do início dos experimentos (B-F), e aos 18 (I), 44 (G) e 60 dias (A e H). A-F: Tratamentos assintomáticos. G-I: Injúrias na lâmina foliar caracterizadas por necrose (→) em (G), enrolamento da lâmina foliar no sentido abaxial (H) e protuberâncias (\*) na face adaxial do folíolo (I). Barras: 30 mm (A-I).

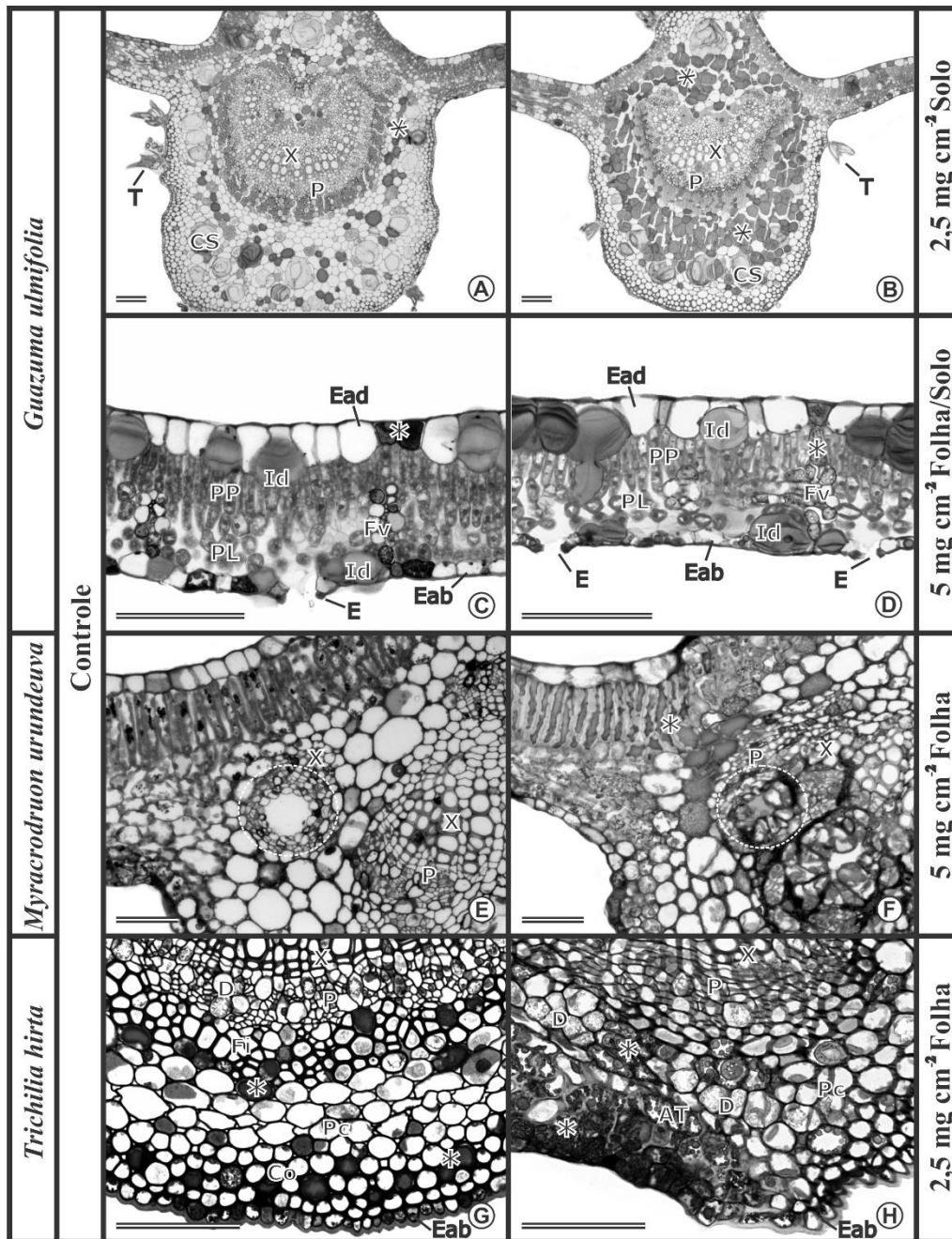


Figura 2. Lâmina foliar de *Guazuma ulmifolia* (A-D), *Myracrodruon urundeuva* (E e F) e *Trichilia hirta* (G e H), seções transversais. Tratamento controle (A, C, E e G). Tratamentos com poeira de cimento (B, D, F e H), sendo (B e H) 2,5 mg cm<sup>-2</sup> Solo e Folha, respectivamente, e (D e F) 5 mg cm<sup>-2</sup> Folha/Solo e Folha, respectivamente, após 60 dias de exposição. A: Nervura mediana intacta. B: Nervura mediana com acúmulo provável de compostos fenólicos (\*). C e D: Lâmina foliar intacta, com acúmulo de idioblasto mucilaginoso (Id). E: Canal secretor (círculo tracejado) em fase pós-secretora, com epitélio unisseriado e células vacuoladas. F: Canais com epitélios desorganizados e apresentando células com citoplasma denso, provavelmente em atividade secretora. G: Detalhe da nervura intacta. H: Detalhe da mudança na organização e conteúdo das células epidérmicas, colenquimáticas (Co) e corticais (Pc) da nervura; notar acúmulo de drusas (D) nos tecidos afetados (AT). Legenda: (CS) cavidade secretora, (T) tricoma tector estrelado, (X) xilema, (P) floema, (Ead) face adaxial da folha, (Eab) face abaxial da folha, (PP) parênquima paliádico, (PL) parênquima lacunoso, (Fv) feixe vascular, (E) estômato, (Fi) fibras. Barras: 100 µm (A-H).



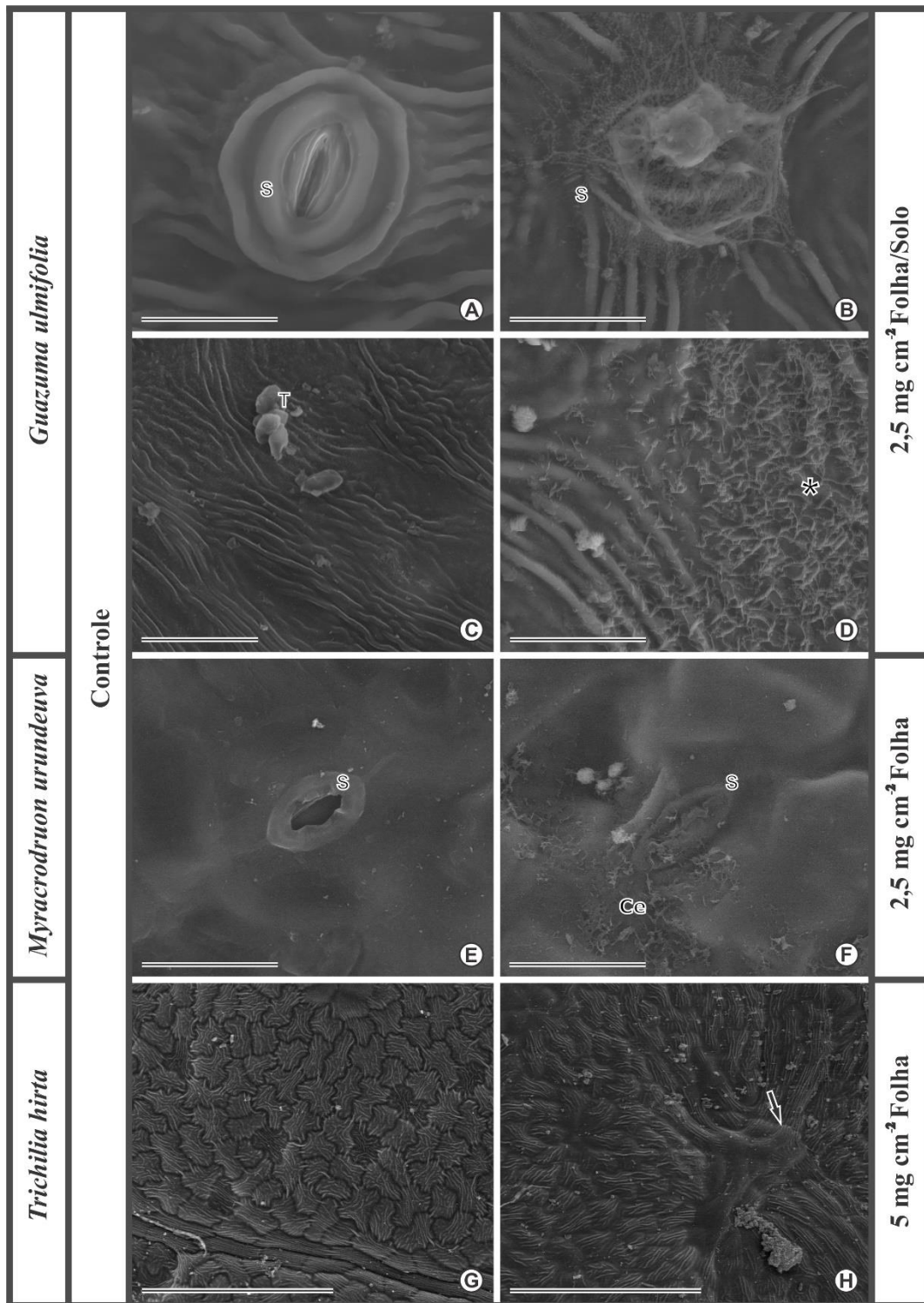


Figura 3. Micromorfologia foliar de *Guazuma ulmifolia* (A-D), *Myracrodruon urundeuva* (E e F) e *Trichilia hirta* (G e H), face abaxial (A, B, E e F) e adaxial (C, D, G e H) da lâmina. Tratamento controle (A, C, E e G). Tratamento com material particulado de cimento (B, D, F e H), após 60 dias de deposição da poeira na Folha/Solo (B e D) e Folha (F e H), nas concentrações de 2,5 (B, D e F) e 5 mg cm<sup>-2</sup> (H). A e E: Estômatos (S) íntegros. B e F: Obliteração do poro estomático; notar em F erosão da cera epicuticular (Ce) de *M. urundeuva*. C e G: Células epidérmicas túrgidas e em G tricomas glandulares (T) íntegros. D e H: Alterações no padrão de deposição da cera epicuticular (\*) e no relevo celular (→), respectivamente. Barras: 10 µm (A, B, D, E e F); 20 µm (C); 200 µm (G e H).

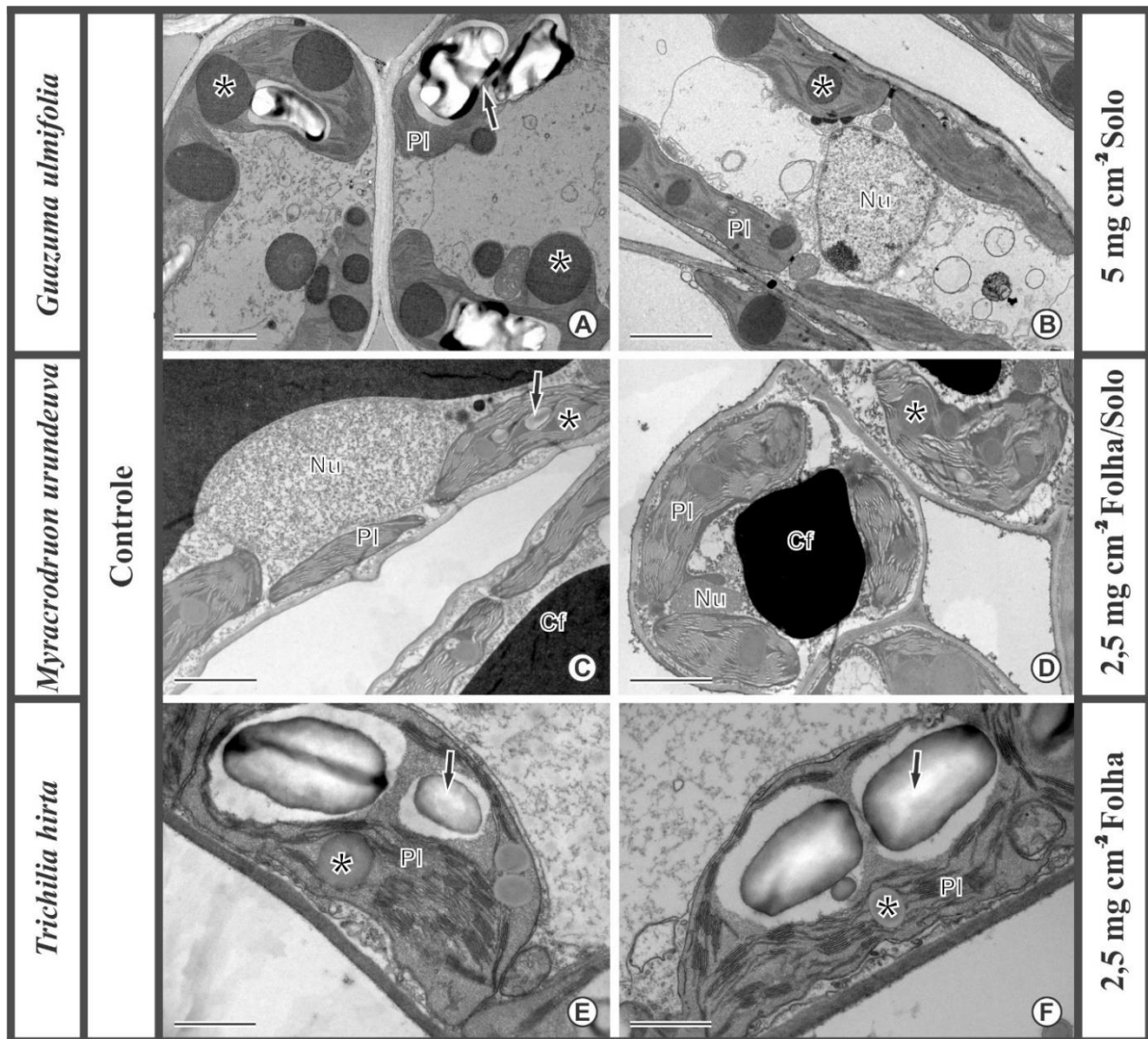


Figura 4. Aspectos ultraestruturais das células do mesofilo de *Guazuma ulmifolia* (A e B), *Myracrodruon urundeuva* (C e D) e *Trichilia hirta* (E e F). Tratamento controle (A, C e E). Deposição de material particulado de cimento (B, D e F) após 60 dias, nos tratamentos 5 mg cm<sup>-2</sup> Solo (B) e 2,5 mg cm<sup>-2</sup> Folha/Solo e Folha (D e F), respectivamente. A-F: Detalhe das células do mesofilo evidenciando plastídios (PI) íntegros, sem sinais de desorganização no sistema de membranas. Legenda: (Nu) núcleo, (→) grãos de amido, (\*) plastoglóbulos, (Cf) compostos fenólicos. Barras: 2 μm (A-D); 1 μm (E e F).



#### 4. Discussão

As alterações morfonatômicas nas folhas das espécies estudadas, como necrose dos tecidos, desenvolvimento de protuberâncias, mudança na organização, conteúdo, relevo das células e padrão de deposição da cera epicuticular, bem como erosão da cera, obliteração dos estômatos foram respostas ao estresse imposto pelo contato direto da poeira de cimento com a superfície foliar, e não em função da alcalinização do solo, principal fator responsável por afetar a estrutura foliar em outros estudos (Mandre e Lukjanova, 2011; Mandre et al., 2012; Lukjanova et al., 2013). Entretanto, no presente estudo, não foi possível estabelecer um marcador estrutural e ultraestrutural específico, relacionado à tolerância da poeira de cimento, uma vez que as principais alterações observadas já haviam sido relatadas em resposta a outros estresses ambientais.

Danos na micromorfologia foliar, como erosão de cera epicuticular, alteração no relevo celular, formação de concavidades e obliteração dos estômatos, como observados nas espécies aqui estudadas, foram também caracterizados em plantas submetidas ao ozônio, dióxido de enxofre, material particulado, nevoeiro ácido e flúor (Pal et al., 2002; Silva et al., 2005; Campos et al., 2010; Sant'Anna-Santos et al., 2012, 2014), entre outros poluentes. Em *Pinus halepensis* Mill., crescendo nas proximidades de uma indústria cimenteira, houve também escamação da cera epicuticular e obstrução dos estômatos, além de formação de crosta de cimento na superfície foliar (Bačić et al., 1999). A cera epicuticular é considerada a primeira linha de defesa das plantas, podendo conferir resistência aos estresses ambientais (Pal et al., 2002).

Mancha de queima seguida de abscisão foliar precoce, como ocorrida em *T. hirta* após deposição de poeira alcalina na superfície foliar, foi também constatada em indivíduos jovens de *S. terebinthifolius* expostos ao cimento (Bujokas et al., 2010). Este sintoma pode ser uma resposta ao estresse e à elevação da produção de etileno, denominado de “etileno de estresse” (Taiz e Zeiger, 2013), em função do contato direto do cimento com a parte aérea da planta.

O surgimento de necroses foliares como descrito para *G. ulmifolia* e *T. hirta*, tem sido reportados em resposta a estresses por flúor e nevoeiro ácido (Sant'Anna-Santos et al., 2006a,b; Sant'Anna-Santos et al., 2012, 2014), bem como à poeira de cimento (Farmer, 1993).

A formação de protuberâncias na superfície epidérmica de *T. hirta* parece resultar da variação na intensidade de luz incidente sobre a superfície foliar, em função do sombreamento imposto pela crosta de cimento, o qual promove expansão diferencial nas células do mesófilo e conseqüentemente, a formação de protuberâncias somente nas folhas que se desenvolveram e expandiram sob ação da poeira.

A aglomeração de drusas na região dos tecidos foliares afetados de *T. hirta*, pode constituir uma barreira e conseqüentemente, impedir o progresso da necrose para os tecidos saudáveis, assemelhando-se ao relatado para meristema de cicatrização em plantas submetidas a outros tipos de poluentes (Dickson, 2000; Sant'Anna-Santos et al., 2006b; Siqueira-Silva et al., 2012).

A poluição ambiental constitui um dos principais fatores que causam alterações na morfoanatomia foliar (Lukjanova et al., 2013). Estudos empregando variáveis morfoanatômicas são importantes para estabelecer o grau de tolerância e seletividade de espécies vegetais a ambientes impactados, gerando contribuições em pesquisas de biomonitoramento e biorremediação (Lizieri et al., 2012), bem como na escolha de espécies a serem empregadas na revegetação de áreas impactadas pela atividade industrial.

Futuros estudos *in situ* serão necessários para confrontar com os dados aqui obtidos em condições controladas, os quais indicaram que em um curto período de exposição à poeira de cimento e previamente à alcalinização e desequilíbrio nutricional do solo, ocorrem danos foliares em decorrência do contato da poeira com a parte aérea, como demonstrado em *G. ulmifolia*, *M. urundeuva* e *T. hirta*.

## **5. Conclusões**

*G. ulmifolia*, *M. urundeuva* e *T. hirta*, embora tenham apresentado injúrias foliares em função do contato direto do cimento com a superfície foliar, foram resistentes à poeira alcalina. Os sintomas morfoanatômicos encontrados nas folhas das espécies estudadas não permitem indicar um biomarcador de tolerância específico para poeira de cimento, uma vez que as principais alterações encontradas já haviam sido descritas em resposta a outros estresses ambientais.

## **Agradecimentos**

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento da pesquisa (473261/2010-3) e pela bolsa de doutoramento concedida ao primeiro autor. À Josiane A. T. Oliveira pela ajuda na condução e coleta dos experimentos. Ao Centro de Microscopia da UFMG (<http://www.microscopia.ufmg.br>) por fornecer equipamentos e suporte técnico para as análises ultraestruturais.

## Referências bibliográficas

- Anttonen, S., Kärenlampi, L., 1996. Slightly elevated ozone exposure causes cell structural changes in needles and roots of Scots pine. *Trees* 10, 207-217.
- Bačić, T., Lynch, A.H., Cutler, D., 1999. Reactions to cement factory dust contamination by *Pinus halepensis* needles. *Environmental and Experimental Botany* 41, 155-166.
- Baek, S.G., Woo, S.Y., 2010. Physiological and biochemical responses of two tree species in urban areas to different air pollution levels. *Photosynthetica* 48, 23-29.
- Bhatty, J.I., 1995. Role of minor elements in cement manufacture and use. *Research and Development Bulletin RD109T*. Portland Cement Association, Skokie, Illinois, USA.
- Branquinho, C., Gaio-Oliveira, G., Augusto, S., Pinho, P., Má-Guas, C., Correia, O., 2008. Biomonitoring spatial and temporal impact of atmospheric dust from a cement industry. *Environmental Pollution* 151, 292-299.
- Bujokas, W.M., Martins, K.G., Marques, R., 2010. Crescimento, teores de clorofila e de bioelementos em indivíduos jovens de *Schinus terebinthifolius* expostos à poeira de cimento. *Floresta* 40, 523-534.
- Campos, N.V., Azevedo, A.A., Sant'Anna-Santos, B.F., 2010. Acúmulo e efeitos fitotóxicos do flúor em folhas de boldo-gambá e capim-cidreira utilizadas para chás. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 45, 646-653.
- Demir, T.A., Akar, T., Akyüz, F., Işikli, B., Kanbak, G., 2005. Nickel and cadmium concentrations in plasma and Na<sup>+</sup>/ K<sup>+</sup> ATPase activities in erythrocyte membranes of the people exposed to cement dust emissions. *Environmental Monitoring and Assessment* 104, 437-444.
- Dickison, W.C., 2000. *Integrative Plant Anatomy*. Academic Press, San Diego, 533 p.
- Farmer, A.M., 1993. The effects of dust on vegetation - a review. *Environmental Pollution* 79, 63-75.
- Grantz, D.A., Garner, J.H.B., Johnson, D.W., 2003. Ecological effects of particulate matter. *Environment International* 29, 213-239.
- Işikli, B., Demir, T.A., Akar, T., Berber, A., Ürer, S.M., Kalyoncu, C., Canbek, M., 2006. Cadmium exposure from the cement dust emissions: A field study in a rural residence. *Chemosphere* 63, 1546-1552.
- Lee, D.S., Pacyna, J.M., 1999. An industrial emissions inventory of calcium for Europe. *Atmospheric Environment* 33, 1687-1697.
- Lizieri, C., Kuki, K.N., Aguiar, R., 2012. The morphophysiological responses of free-floating aquatic macrophytes to a supra-optimal supply of manganese. *Water, Air and Soil Pollution* 223, 2807-2820.

- Lorenzi, H., 1998. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil, Instituto Plantarum, São Paulo.
- Lorenzi, H., Matos, F.J.A., 2008. Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas, Instituto Plantarum, São Paulo, 544 p.
- Lukjanova, A., Mandre, M., 2010. Effects of alkalization of the environment on the anatomy of Scots pine (*Pinus sylvestris*) needles. *Water, Air and Soil Pollution* 206, 13-22.
- Lukjanova, A., Mandre, M., Saarman, G., 2013. Impact of alkalization of the soil on the anatomy of Norway spruce (*Picea abies*) needles. *Water, Air and Soil Pollution* 224, 1-12.
- Mandre, M., Lukjanova, A., 2011. Biochemical and structural characteristics of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in an alkaline environment. *Estonian Journal of Ecology* 60, 264-283.
- Mandre, M., Klõšeiko, J., Lukjanova, A., Tullus, A., 2012. Hybrid aspens responses to alkalisation of soil: growth, leaf structure, photosynthetic rate and carbohydrates. *Trees - Structure and Function* 26, 1847-1858.
- Ogunbileje, J.O., Sadagoparamanujam, V.-M., Anetor, J.I., Farombi, E.O., Akinosum, O.M., Okorodudu, A.O., 2013. Lead, mercury, cadmium, chromium, nickel, copper, zinc, calcium, iron, manganese and chromium (VI) levels in Nigeria and United States of America cement dust. *Chemosphere* 90, 2743-2749.
- Oliveira-Filho, A.T., 2006. Catálogo das árvores nativas de Minas Gerais: mapeamento e inventário da flora nativa e dos reflorestamentos de Minas Gerais. Lavras, Editora UFLA, 423 p.
- Pal, A., Kulshreshtha, K., Ahmad, K.J., Behl, H.M., 2002. Do leaf surface characters play a role in plant resistance to auto-exhaust pollution? *Flora* 197, 47-55.
- Rodrigues, F.A., Joekes, I., 2011. Cement industry: sustainability, challenges and perspectives. *Environmental Chemistry Letters* 9, 151-166.
- Salama, H.M.H., Al-Rumaih, M.M., Al-Dosary, M.A., 2011. Effects of Riyadh cement industry pollutions on some physiological and morphological factors of *Datura innoxia* Mill. plant. *Saudi Journal of Biological Sciences* 18, 227-237.
- Sant'Anna-Santos, B.F., Silva, L.C., Azevedo, A.A., Araújo, J.M., Alves, E.F., Silva, E.A.M., Aguiar, R., 2006a. Effects of simulated acid rain on the foliar micromorphology and anatomy of tree tropical species. *Environmental and Experimental Botany* 58, 158-168.
- Sant'Anna-Santos, B.F., Silva, L.C., Azevedo, A.A., Aguiar, R., 2006b. Effects of simulated acid rain on leaf anatomy and micromorphology of *Genipa americana* L. (Rubiaceae). *Brazilian Archives of Biology and Technology* 49, 313-321.
- Sant'Anna-Santos, B.F., Azevedo, A.A., Silva, L.C., Oliva, M.A., 2012. Diagnostic and prognostic characteristics of phytotoxicity caused by fluoride on *Spondias dulcis* Forst. F. (Anacardiaceae). *Annals of the Brazilian Academy of Sciences* 84, 689-702.

- Sant'Anna-Santos, B.F., Azevedo, A.A., Alves, T.G., Campos, N.V., Oliva, M.A., Valente, V.M.M., 2014. Effects of emissions from an aluminium smelter in a tree tropical species sensitive to fluoride. *Water, Air and Soil Pollution* 225, 1817. DOI 10.1007/s11270-013-1817-5
- Silva, L.C., Oliva, M.A., Azevedo, A.A., Araújo, J.M., Aguiar, R.M., 2005. Micromorphological and anatomical alterations caused by simulated acid rain in restinga plants: *Eugenia uniflora* e *Clusia hilariana*. *Water, Air, and Soil Pollution* 168, 129-143.
- Silva, D.T., Morais, R.M., 2013. Physiological responses of the tropical tree *Tibouchina pulchra* Cogn. under the influence of combustion of crude oil and natural gas at an oil refinery. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 90, 69-75.
- Sindicato Nacional da Indústria do Cimento - SNIC, 2013. Relatório anual de 2012. Disponível em: <<http://www.snic.org.br>>. Acesso em: 02 nov. 2013.
- Siqueira-Silva, A.I., Silva, L.C., Azevedo, A.A., Oliva, M.A., 2012. Iron plaque formation and morphoanatomy of roots from species of restinga subjected to excess iron. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 78, 265-275.
- Taiz, L., Zeiger, E., 2013. *Fisiologia vegetal*, Artmed, Porto Alegre, 918 p.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Entre as quatro espécies investigadas, *C. fissilis* apresentou maior sensibilidade à poeira de cimento, podendo desempenhar papel promissor na avaliação do impacto ambiental das atividades de indústrias cimenteiras.

Nos folíolos de *C. fissilis*, a exposição à poeira alcalina ocasionou alterações morfoanatômicas (clorose e necrose foliar, redução na espessura da lâmina foliar, perda da turgidez das células, obliteração do poro estomático e colapso celular), fisiológicas (redução de pigmentos fotossintéticos, alteração na composição nutricional dos folíolos com redução do teor foliar de Fe, queda na condutância estomática e no rendimento quântico potencial do fotossistema II, senescência e abscisão foliar precoce) e bioquímicas (aumento da atividade de enzimas do sistema antioxidante - catalase, superóxido dismutase e ascorbato peroxidase).

Em *G. ulmifolia*, *M. urundeuva* e *T. hirta*, a exposição à poeira causou alterações nos teores de pigmentos e de nutrientes foliares, conduzindo à elevação do teor foliar de Ca em *G. ulmifolia* e redução de Fe em todas as espécies. Houve também obliteração do poro estomático e bloqueio de parte da luz incidente nas três espécies, abscisão foliar precoce, mudança na organização e conteúdo das células da nervura mediana (*T. hirta*), erosão da cera epicuticular (*M. urundeuva*) e alteração em seu padrão de deposição (*G. ulmifolia*), além de necrose foliar (*G. ulmifolia* e *T. hirta*), desenvolvimento de protuberâncias e alteração no relevo celular (*T. hirta*). Não foram detectadas alterações ultraestruturais nas células epidérmicas e no mesofilo, e também nas atividades das enzimas do sistema antioxidante das três espécies, exceto para a enzima superóxido dismutase em *M. urundeuva*, na concentração máxima de cimento sobre a folha e solo, a qual teve sua atividade elevada.

Os sintomas foliares desenvolvidos nas espécies estudadas dificultam a indicação de um biomarcador específico para a poeira de cimento, uma vez que as principais alterações encontradas já haviam sido descritas em resposta a outros estresses ambientais. Em termos gerais, os principais danos foliares foram anteriores à alcalinização do solo e alteração na composição nutricional do mesmo, sendo causados em função principalmente do contato da poeira de cimento com a superfície foliar.