

# Anatomia foliar e análise de EDX de *Costus spiralis* (Jacq.) Roscoe de ambiente impactado e não impactado do litoral de São Paulo.

Calaboni, C<sup>1</sup>., Martins, M.B.G<sup>1</sup> & Rossi, M.L<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Universidade Estadual Paulista, UNESP, Campus Experimental do Litoral Paulista. Praça Infante Dom Henrique, s/nº, Parque Bitaru, CEP 11330-900, São Vicente, São Paulo. cristiane.calaboni@gmail.com; bernadete@clp.unesp.br.

<sup>2</sup>, Universidade de São Paulo, USP, Centro de Energia Nuclear na Agricultura. Av. Centenário, nº 303, Caixa Postal 96, CEP 13416-000, Piracicaba, São Paulo. monicalr@cena.usp.br.

Recebido em 31.VII.2012. Aceito em 16. XII.2013.

**RESUMO** – Diversas plantas apresentam alterações morfológicas quando expostas ao estresse ambiental. Assim, o objetivo do trabalho foi analisar comparativamente a anatomia foliar e EDX (espectrometria de energia dispersiva de raios-X) de *Costus spiralis* (Jacq.) Roscoe da Estação Ecológica Juréia-Itatins (Peruíbe, São Paulo), área preservada, com a região do Vale do Rio Mogi (Cubatão/São Paulo), região impactada pelo polo industrial de Cubatão. Houve diferenças significativas nas amostras provenientes de Cubatão, apresentando menor tamanho das células hipodérmicas na face abaxial, maior na adaxial e maior tamanho do feixe vascular da nervura central da folha. Houve degradação da cera epicuticular. Na análise de EDX, as amostras de Cubatão apresentaram diferenças significativas nas concentrações de potássio, cálcio e presença de manganês. Houve deposição de cristais nas células da bainha do feixe vascular, provavelmente devido às altas concentrações de resíduos de fosfogesso provenientes das indústrias de fertilizantes da região.

Palavras-chave: caracterização anatômica, Cubatão, Juréia-Itatins, *Zingiberaceae*

**ABSTRACT** – **Anatomical characterization of *Costus spiralis* (Jacq.) Roscoe leaves from impacted and non-impacted environments from the São Paulo coast.** Several plants show morphological changes when exposed to environmental stress. We aimed to analyze comparative anatomy and EDX (energy dispersive x-ray detector) of *Costus spiralis* (Jacq.) Roscoe leaves from Juréia-Itatins Ecological Station (Peruíbe, São Paulo), a preserved area, and Mogi River Valley (Cubatão, São Paulo) an affected area by pollution from the industrial complex of Cubatão. There were some significant differences in the leaves from the affected area, where they had a smaller abaxial hypoderm, larger size of adaxial hypoderm and larger central vascular core. There were damages in epicuticular wax deposition. The EDX analyses presented only differences in calcium and potassium concentration and presence of manganese in Cubatão samples. Those leaves presented crystal deposition in the vascular core, probably because of the phosphogypsum residues from fertilizer industries.

Key-words: anatomical characterization, Cubatão, Juréia-Itatins, *Zingiberaceae*

## INTRODUÇÃO

*Costus spiralis*, popularmente conhecida como cana-de-macaco, é uma herbácea rizomatosa nativa da América do Sul e do Brasil, de 1 a 180 cm de altura, com hastes semelhantes à cana, de folhagem e florescimento ornamentais com folhas dispostas em espiral (Lorenzi, 2001).

A Estação Ecológica Juréia-Itatins é uma Unidade de Conservação situada no litoral sul do

Estado de São Paulo é uma importante reserva de biodiversidade da Mata Atlântica ainda preservada (Sanches, 2004). Já o município de Cubatão ficou conhecido como uma área afetada pelos sérios problemas de poluição atmosférica, em função dos poluentes liberados pelas indústrias petroquímicas, siderúrgicas e de fertilizantes (CETESB, 2012). O Rio Mogi se destaca por apresentar em suas cabeceiras resíduos sólidos, conhecidos como fosfogesso (sulfato de cálcio hidratado), subproduto

da produção de fertilizantes, além de liberar flúor no ambiente durante o processo (Calado, 2008). A maior parte do fosfogesso gerado no Brasil é proveniente de Cubatão, dispostos em pilhas ou lagoas (Luz *et al.*, 2005).

Estudos feitos pela CETESB (2012) têm revelado que os danos à vegetação são causados principalmente por fluoretos (sólidos e gasosos), um dos mais importantes agentes fitotóxicos liberados na região. Diversas espécies são conhecidas por apresentarem modificações estruturais quando expostas a altas concentrações de poluentes químicos (Larcher, 2000; Silva *et al.*, 2010). De acordo com Kurczyn'ska *et al.* (1997), houve diminuição de células do câmbio, floema, além do surgimento de falsas traqueídes em *Pinus sylvestris* L. expostas a altas taxas de metais pesados na atmosfera. Fortes (2003) comprovou que a presença de flúor em folhas de milho (*Zea mays* L.) acarretou sintomas que evoluíram desde uma descoloração do limbo foliar até a seca marginal das folhas.

Algumas espécies são capazes de tolerar a presença de poluentes, denominadas de biosensores, reagindo discretamente aos efeitos da poluição, sem apresentar sintomas visuais. Dessa forma é fundamental a detecção de alterações utilizando-se técnicas de microscopia (De Temmerman *et al.*, 2004). Neste contexto, o presente estudo teve por objetivos: caracterizar a anatomia e determinar a possível presença de metais em folhas adultas de *Costus spiralis* de ambiente impactado e não impactado do litoral paulista; comparar características morfo-anatômicas entre plantas provenientes de ambiente impactado e não impactado, investigando alterações possivelmente provocadas por fontes de impacto ambiental.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os espécimes vegetais de *Costus spiralis* de ambiente não impactado foram coletados no Parque Estadual Juréia-Itatins (Peruíbe, São Paulo) sob as coordenadas 24°22'52.64"S e 47°04'55.64" e os espécimes de área impactada foram coletadas no Vale do Rio Mogi (Cubatão, São Paulo) sob as coordenadas: 23°50'27.90" S e 46°22'46.53". A exsiccata foi depositada no herbário da Escola Superior de Agronomia "Luiz de Queiroz" (ESALQ, USP), sob número ESA 111283.

Foram coletadas 15 folhas de 10 indivíduos diferentes, colhidas no estágio vegetativo do desenvolvimento da planta, presentes no sub-

bosque de cada ambiente, sendo obtidas nas mesmas condições de iluminação.

## Microscopia de Luz

Para o estudo histológico foram utilizadas folhas completamente expandidas (adultas), entre o 5° e 8° nós e os cortes foram realizados na região mediana da nervura central da folha. O preparo do material para obtenção do laminário para microscopia de luz constitui-se basicamente de processos usuais utilizados em histologia, que incluem: fixação em FAA 50 (formaldeído, ácido acético glacial, etanol) (Johansen, 1940) por 24 horas, desidratação em série etílica crescente (10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100%), infiltração em hidróxi-etil-metacrilato (Leica HistoResin®) conforme recomenda o fabricante, emblocamento nessa mesma resina, seccionamento, coloração e montagem de lâminas permanentes (Guerrits, 1991). Os blocos obtidos foram seccionados em micrótomo rotativo Leica RM 2245 com o auxílio de uma navalha de aço do tipo C, obtendo-se secções transversais da lâmina foliar e da nervura principal, com 4 µm de espessura. As secções foram colocadas sobre uma lâmina de vidro e em seguida foi depositada sobre uma placa aquecedora a 40°C para a secagem e fixação das amostras. Após essa etapa utilizou-se o corante Azul de Toluidina 1% com Borato de Sódio 1%, em água destilada (O'Brien *et al.*, 1964) e montadas entre lâmina e lamínula com resina sintética "Entellan".

## Captura de Imagens e Biometria Tecidual

Após a confecção das lâminas para microscopia de luz, foram realizadas a captura de imagens por meio de captador acoplado ao microscópio de luz Leica DMLB. As imagens foram digitalizadas através do programa Leica IM50, Versão 5. Para a aferição das espessuras: epiderme, em ambas as faces; parênquimas, paliádico e esponjoso, feixe vascular central; nervura central; mesofilo e hipoderme nas faces abaxial e adaxial. Para a contagem das câmaras subestomáticas utilizou-se do programa KS 100, versão 3.0 (Zeiss).

Foram utilizadas 15 folhas de 10 indivíduos diferentes de cada ambiente, sob as mesmas condições de luminosidade do sub-bosque, onde foram realizadas 10 aferições de cada estrutura. O teste "W", de Shapiro-Wilkes, confirmou a normalidade das médias, que foram então submetidas às comparações através do teste de hipótese *t-Student*,

com 5% de significância. Pacote estatístico utilizado: Statística 7.0 (Statsoft).

### Microscopia Eletrônica de Varredura

O material foi fixado em solução de Karnovsky (1965) modificado, (paraformaldeído 4%, glutaraldeído 0,5%, em tampão cacodilato de sódio 0,1M, pH 7,2 e água destilada), overnight (Karnovsky, 1965). Após foram feitas três lavagens em tampão cacodilato de sódio 0,05M, com a duração de dez minutos cada e uma pós-fixação com tetróxido de ósmio 1% durante uma hora. O material foi desidratado em série crescente de acetona em água (30, 50, 70, 90 e 100%) sendo em seguida feita a secagem ao ponto crítico utilizando CO<sub>2</sub> líquido. Posteriormente as amostras foram montadas em suportes metálicos “stubs” e em seguida metalizadas com ouro durante 180 segundos (Danilatos, 1998). A análise foi realizada no Microscópio Eletrônico de Varredura Zeiss DSM 940A, localizado no Núcleo de Apoio à Pesquisa em Microscopia Eletrônica aplicada à Agropecuária (NAP/MEPA), ESALQ-USP, Piracicaba, São Paulo.

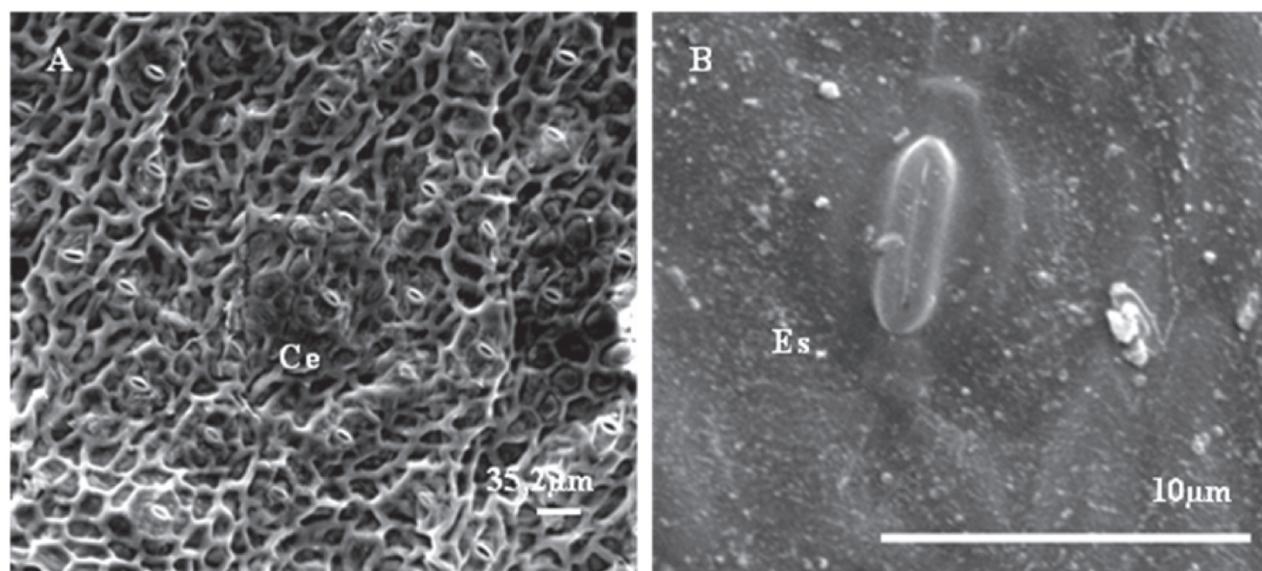
### Análise de Energia Dispersiva de Raios-X (EDX)

As amostras foram secas em estufa a 60°, montadas em suportes metálicos “stubs” e cobertas com carbono ao evaporador (MED 010 Balzers).

Em seguida foram observadas ao microscópio eletrônico de varredura Zeiss DSM 940 A, onde as imagens digitalizadas foram obtidas. Esta análise é um acessório essencial no estudo de caracterização microscópica de materiais, identificando a composição do mineral através de feixes de elétrons. A análise foi realizada no NAP/MEPA, ESALQ-USP, Piracicaba, São Paulo.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

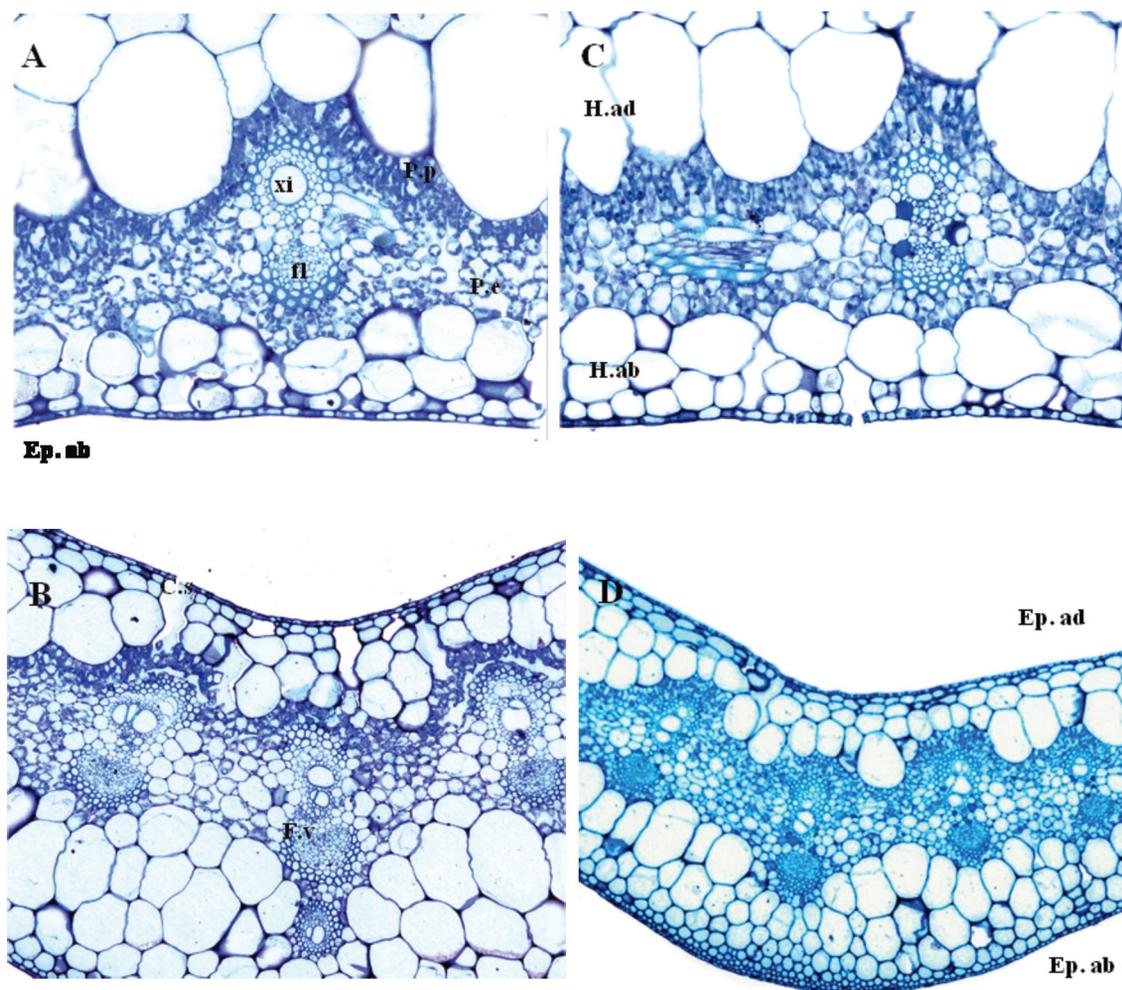
As folhas de *C. spiralis* apresentaram grande deposição de cera epicuticular dispostas sobre as paredes periclinais externas das células epidérmicas (Fig. 1A). Houve degradação da cera epicuticular das folhas provenientes de ambiente impactado em relação às amostras provenientes de ambiente sem impactos ambientais (Fig. 1B). De acordo com Klumpp *et al.* (1996) os fluoretos liberados pelas indústrias de fertilizantes da região são responsáveis por grandes danos à vegetação. A remoção da cera epicuticular é um dos critérios para um reconhecimento inicial dos danos causados pela poluição (Larcher, 2000). De acordo com Silva *et al.* (2000) chuva simulada contendo flúor remove cera epicuticular de plantas herbáceas, como foi constatado em *Chloris gayana* Kunth. (Chaves *et al.*, 2002), *Coffea arabica* L. cv Obatã e *Gladiolus* spp var. White Goddess (Mesquita *et al.*, 2011) e *Magnolia ovata* (A. St.-Hil) Spreng. (*Magnoliaceae*) (Sant’Anna-Santos *et al.*, 2007).



**Fig. 1 A, B.** Epiderme foliar em vista frontal de *Costus spiralis* de região impactada e não impactada em Microscopia eletrônica de varredura (MEV). **A.** vista geral da epiderme face abaxial da folha de ambiente não impactado mostrando grande quantidade de estômatos (Es) e presença de cera epicuticular (Ce) (Estação Ecológica Juréia Itatins, Peruíbe). **B.** Epiderme face adaxial evidenciando ausência de cera epicuticular e detalhe do estômato (Es) (Vale do Rio Mogi, Cubatão). Barras: **Fig.1A** =35,2μm; **Fig1B** =10 μm.

Não foram observadas diferenças significativas (quantitativas) de câmaras subestomáticas entre os diferentes ambientes (Tab.1). Pedroso & Alves (2008) afirmaram que houve aumento das câmaras subestomáticas e estômatos mais salientes em cultivar

de *Nicotiana tabacum* L. (*Solanaceae*) sensível ao ozônio. Plantas de *Podocarpus lambertii* Klotzsch ex Endl., (*Podocarpaceae*) expostas à poluição por petróleo apresentaram maior densidade estomática (Maranho *et al.*, 2006).



**Figs. 2 A-D.** Secções transversais do limbo foliar de *Costus spiralis* (microscopia de luz). **A, B.** Ambiente impactado (Vale do Rio Mogi/Cubatão); **C, D.** Ambiente não impactado (Juréia-Itatins/Peruíbe). **A, C.** Secção transversal do mesofilo (200x); **B.** Secção transversal da região mediana da nervura principal (100x); **D.** Secção transversal da região mediana da nervura central (50x). Xilema (Xi); Floema (fl); Parênquima esponjoso (P.e); Parênquima paliçádico (P.p); Epiderme abaxial (Ep.ab); Epiderme adaxial (Ep.ad); Câmara subestomática (C.s); Feixe vascular (F.v); Hipoderme abaxial (H.ab); Hipoderme adaxial (H.ad).

A folha em secção transversal apresenta a epiderme em ambas as faces, constituída por células pequenas e achatadas em relação às demais células do mesofilo, corroborando com o trabalho de Oliveira *et al.*, (1986). Não houve diferenças significativas na epiderme das plantas provenientes de ambos ambientes (Tab. 1). De acordo com Silva *et al.* (2010a) não houve diferenças no tamanho da epiderme em secção transversal de folhas de *Avicennia schaueriana* Staff. & Leech Ex. Moldenke (*Verbenaceae*) e de *Rhizophora mangle* L.

(*Rhizophoraceae*) provenientes de ambiente impactado e não impactado do estuário de Santos. Porém, Silva *et al.*, (2010b) relataram que houve diminuição no tamanho celular das células da epiderme de folhas de *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn (*Combretaceae*) de manguezais impactados no litoral paulista e de acordo com Alves *et al.* (2008) em *Tillandsia usneoides* (L.) L. (*Bromeliaceae*), observaram que houve aumento na altura das células da epiderme quando exposta à poluição na cidade de São Paulo.

**Tabela 1.** Comparação entre médias e desvios padrão (quantitativa) de estruturas e de tecidos foliares provenientes de ambiente impactado (Rio Mogi) e não impactado (Estação Ecológica Juréia-Itatins).

	Câm. Subest.	Ep. Abaxial	Ep. Adaxial	Hip. Abaxial
Rio Mogi	4,5 ± 0,31 µm	1,48 ± 0,01µm	1,52±0,095 µm	28,64±1,83 µm
Juréia-Itatins	5,3 ± 0,54 µm	1,41 ± 0,096 µm	1,43±0,082 µm	40,3 ± 1,96 µm
Valor P	0,21ns	0,63ns	0,49ns	0,0004**

\* significativo a 5%; \*\* significativo a 1% de probabilidade; ns = não significativo a 5% de probabilidade.

Câmaras subestomáticas (Câm. Subest.); Epiderme abaxial (Ep. Abaxial); Epiderme Adaxial (Ep. Adaxial); Hipoderme abaxial (Hip. Abaxial)

A folha é anfiestomática, com predominância de estômatos na face abaxial (Fig 1A). O mesofilo apresenta a hipoderme com 2 a 3 camadas de células volumosas, em comparação às demais células do mesofilo; o parênquima paliçádico é constituído por duas ou três camadas de células e parênquima lacunoso com quatro a cinco camadas (Fig. 2). Foram observados estratos de células hipodérmicas formados por células grandes e arredondadas quando comparadas às demais células do mesofilo (Fig. 2). Paes *et al.* (2009) também relataram esse formato nas células hipodérmicas em folhas de *Costus spicatus* SW. (*Zingiberaceae*). Houve aumento significativo em volume celular da hipoderme adaxial e diminuição da abaxial nas folhas de ambiente impactado (Tabs. 1, 2). Segundo Krauss (1948), Pyykkö (1966), Esau (1977) e Brighigna *et al.* (1984) essas adaptações estão relacionadas à economia hídrica e são características marcantes de plantas sujeitas a estresses ambientais.

Folhas mais espessas e menor área foliar, também são entendidas como uma resposta às diferentes condições de estresse (Lambers *et al.* 1998). A espessura e a área foliar, nessas circunstâncias, tendem a ser inversamente proporcionais e compensatórias entre si. A folha diminui a área exposta, mas aumenta

a espessura da lâmina, devido ao incremento dos tecidos fotossintéticos e dos espaços intercelulares, garantindo assim o volume da folha (Lewis 1972; Smith *et al.* 1997).

As folhas de *Clusia hilariana* Schlecht. (*Clusiaceae*) apresentaram colapso das células da hipoderme após serem expostas à chuva ácida simulada (Silva *et al.*, 2005). Em *Cyperus rotundus* L. (*Cyperaceae*) provenientes de áreas contaminadas por resíduos industriais houve deformações na hipoderme (Jesus *et al.*, 2009).

Não houve diferenças significativas nas espessuras dos parênquimas paliçádico e esponjoso de ambos os ambientes, conseqüentemente também não houve alteração na espessura do mesofilo (Tab. 2). Foi relatada diminuição da espessura de ambos os parênquimas em *Laguncularia racemosa* proveniente de mangue impactado (Silva *et al.*, 2010b), em *Rhizophora mangle* houve aumento na espessura do parênquima paliçádico e diminuição do esponjoso; já em *Avicennia schaueriana* não houve modificações significativas em ambiente impactado (Silva *et al.*, 2010a). Segundo Melo *et al.* (2007), algumas espécies desenvolvem mudanças na espessura de tecidos do mesofilo foliar para possibilitar melhor plasticidade as diferentes condições de estresse.

**Tabela 2.** Comparação entre médias e desvios padrão (quantitativa) e de estruturas e tecidos foliares de ambiente impactado (Rio Mogi) e não impactado (Estação Ecológica Juréia-Itatins)

	Hip. Adaxial	Esp. Mesofilo	P. Esponjoso	P. Paliçádico
Rio Mogi	14,67±0,65 µm	76,66±1,65 µm	18,8±1,04 µm	4,67±0,38 µm
Juréia-Itatins	10,16±0,93 µm	73,15±2,73 µm	18,06±1,53 µm	4,51±0,25 µm
Valor P	0,0009**	0,28ns	0,7 ns	0,74 ns

\* significativo a 5%; \*\* significativo a 1% de probabilidade; ns = não significativo a 5% de probabilidade.

Hipoderme adaxial (Hip. Adaxial); Espessura Mesofilo (Esp. Mesofilo); Parênquima esponjoso (P. Esponjoso); Parênquima paliçádico (P. Paliçádico).

*Costus spiralis* possui feixes vasculares do tipo colateral com feixes de menor calibre anficrivais sob os feixes colaterais, sendo que sobre o xilema e o floema estão as fibras de esclerênquima envolvidas por uma endoderme parenquimática sem cloroplastos e não muito definida. Não houve diferença significativa na espessura do feixe vascular e na altura da nervura central, porém foi constatado aumento na altura dos feixes das folhas de *Costus spiralis* provenientes de ambiente impactado (Tab. 3). Gomes *et al.* (2011) relataram aumento na largura do feixe vascular da nervura central em folhas jovens de *Salix humboldtiana* Will. (*Salicaceae*) expostas à poluição do solo causada por indústria de zinco.

Houve expansão da região dos feixes vasculares da nervura principal de *Ryzophora mangle* e *Laguncularia racemosa* provenientes de ambiente impactado (Silva *et al.*, 2010a; Silva *et al.*, 2010b). Seth *et al.* (1999) relacionaram a expansão dos feixes vasculares à capacidade fotossintética e de transporte de assimilados, que podem sofrer alterações em situações de níveis elevados de CO<sub>2</sub>. Larcher (2000) afirma que para evitar a dessecação, plantas submetidas ao estresse hídrico aumentam a capacidade de condução pela ampliação da região da nervura central.

**Tabela 3.** Comparação entre médias e desvios padrão (quantitativo) de estruturas e de tecidos foliares de ambiente impactado (Rio Mogi) e não impactado (Estação Ecológica Juréia-Itatins).

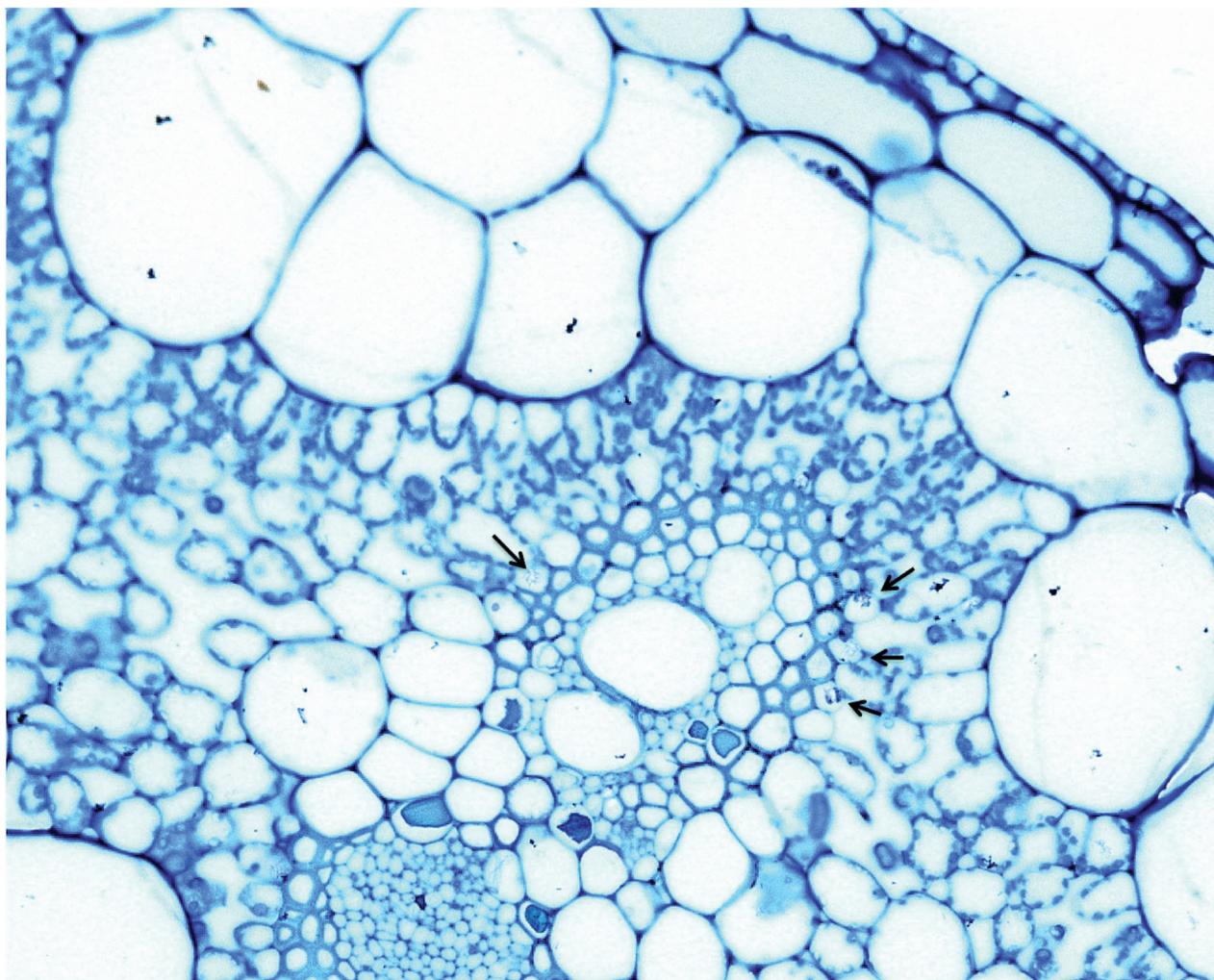
	Altura Feixe	Espessura Feixe	Altura Nervura Central
Rio Mogi	44,13 ± 2,72 µm	10 ± 1 µm	98,32 ± 2,2 µm
Juréia-Itatins	37,84 ± 0,91 µm	8,64 ± 0,36 µm	99,23 ± 1,77 µm
Valor P	0,042*	0,22 ns	0,75 ns

\* significativo a 5%; \*\* significativo a 1% de probabilidade; ns = não significativo a 5% de probabilidade.

Verificaram-se drusas nas células da bainha do feixe das folhas de *C. spiralis* de ambiente impactado (Fig.3). Este fato se deve provavelmente ao acúmulo de sulfato de cálcio no solo e nos efluentes da região, por estarem contaminados por resíduos de fosfogesso (sulfato de cálcio).

Alterações morfológicas na cera epicuticular ocorrem em condições de poluição, perceptíveis como degradação, modificações dos cristais de cera (Esch

& Mengel, 1998) e diminuição do teor, agravadas pelo efeito cumulativo dos poluentes depositados na superfície foliar (Alves *et al.*, 1990). De acordo com Lichston & Godoy (2006) algumas substâncias em contato com a superfície foliar danificam a morfologia e o teor da cera, podendo ser prejudiciais à planta, em razão da diminuição da capacidade de retenção de água pela cera, provocando estresse hídrico nas plantas analisadas.



**Fig. 3.** Secção transversal do limbo foliar de *Costus spiralis* (microscopia de luz). Ambiente impactado (Vale do Rio Mogi, Cubatão). Drusas (setas). Aumento (200x).

Segundo Correa, 2007; Franceschi & Horner, 1980; Prychid & Rudall, 1999, os cristais de oxalato de cálcio representam uma estratégia da planta para manter o equilíbrio iônico, o qual é afetado quando a carga de poluentes é elevada. O aumento na concentração de cristais foi observado em diversas plantas submetidas a poluentes gasosos e a

chuva ácida (Fink, 1991). De acordo com o autor, os poluentes gasosos, como o ozônio, aumentam a permeabilidade das membranas celulares, havendo um influxo de cálcio do apoplasto para o interior da célula. Assim, a formação de cristais nas plantas, seria uma reação de defesa para encapsular o excesso no interior da célula.

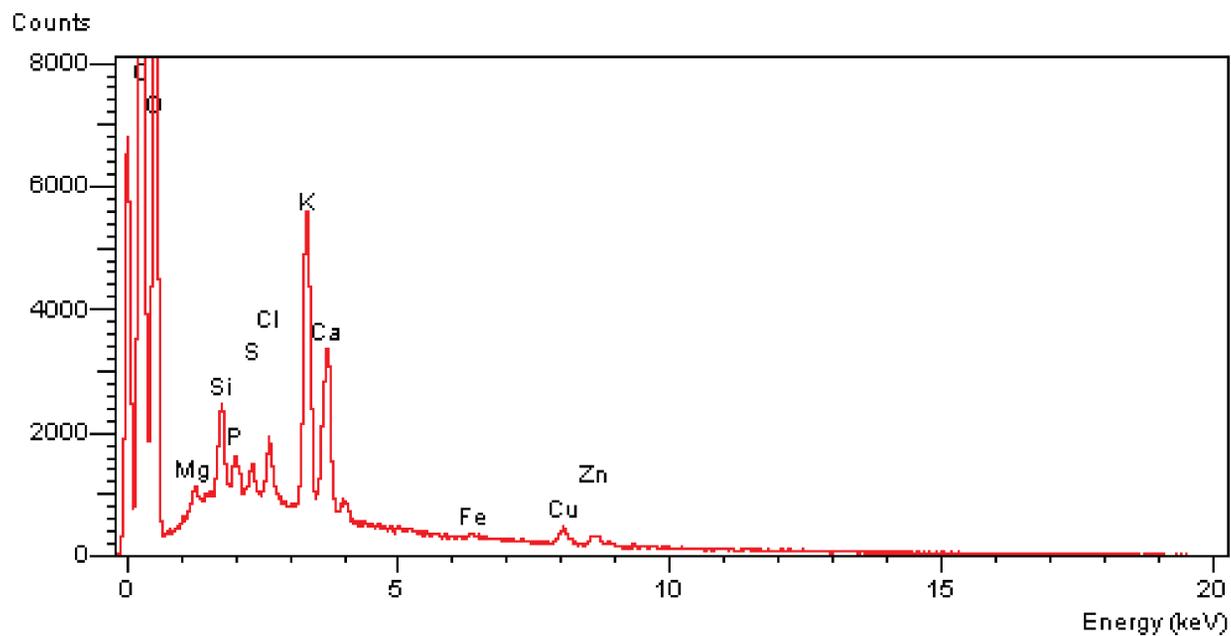


Fig. 4. Resultado da análise de energia dispersiva de raios-X (EDX) das superfícies foliares abaxial e adaxial de ambiente não impactado (Estação Ecológica Juréia -Itatins, Peruíbe).

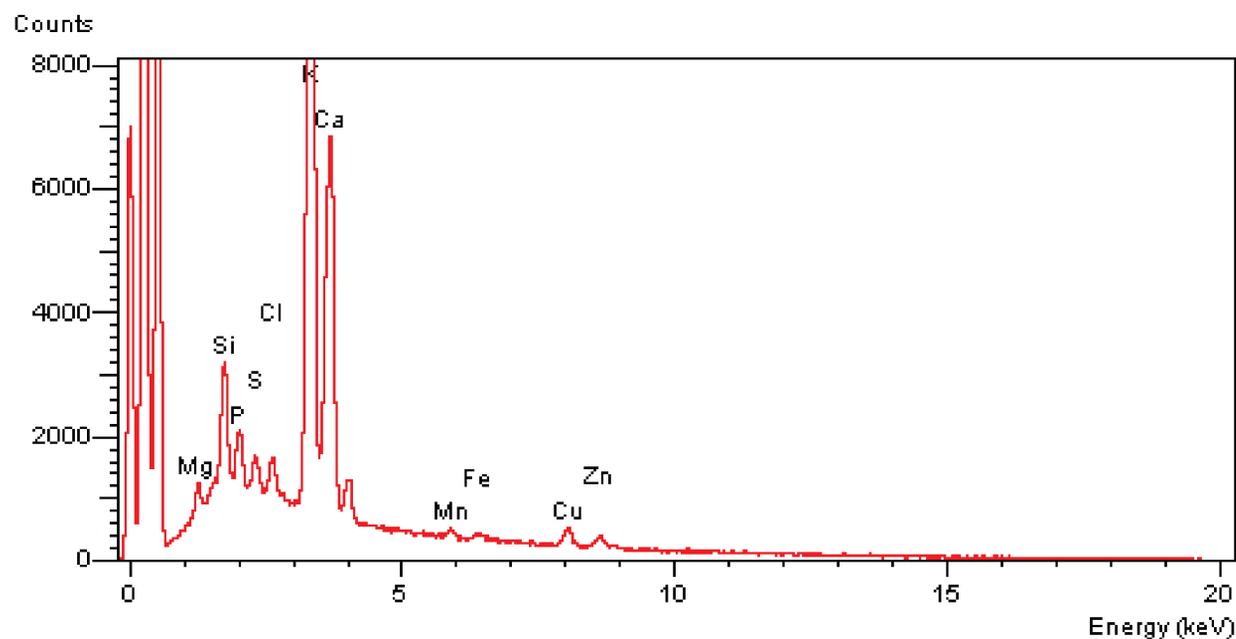


Fig. 5. Resultado da análise de energia dispersiva de raio-x (EDX) das superfícies foliares abaxial e adaxial de plantas de ambiente impactado (Vale do Rio Mogi, Cubatão).

De acordo com levantamentos fitossociológicos da cobertura vegetal da Serra do Mar de Cubatão, realizado pela Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental (CETESB) (1991), *Costus spiralis* é uma espécie tolerante aos impactos ambientais da região. Não foram detectadas diferenças entre os picos de carbono, oxigênio, magnésio, fósforo, enxofre, cloro, ferro, cobre e zinco nas plantas de ambiente impactado e não impactado (Figs. 4, 5). Porém, houve um aumento significativo na quantidade de cálcio (Ca) e potássio (K), e presença de manganês (Mn) (Fig. 5), provavelmente devido à grande concentração desses elementos no solo na forma de resíduos de fosfogesso (Fig. 5). O aumento na quantidade de potássio se deve provavelmente ao aumento do cálcio (Fig. 5). De acordo com Soares *et al.* (1983), o cálcio possui efeitos estimulantes sobre a absorção de potássio em determinadas concentrações. Borges (2011) relatou alto fator de transferência de Ca e K e baixo de Mn, do solo para plantas em ambiente impactado por fosfogesso em Santa Catarina, corroborando com os dados relatados neste trabalho.

## CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no presente estudo permitem demonstrar as alterações ocorridas na estrutura das folhas dos indivíduos de *Costus spiralis*, quando comparadas a folhas de ambiente não impactado. Folhas de *C. spiralis* provenientes de ambiente impactado apresentaram aumento da hipoderme na face adaxial, hipoderme na face abaxial, aumento da altura do feixe vascular, degradação da cera epicuticular e acúmulo de cristais.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro concedido através do processo nº 2008/51434-2.

Ao NAP/MEPA – ESALQ/USP, em especial ao Prof. Dr. Elliot Kitajima, pela utilização das instalações e equipamentos.

## REFERÊNCIAS

- Alves, D. S.; Moura, B. B.; Domingos, M. 2008. Structural analysis of *Tillandsia usneoides* L. exposed to air pollutants in São Paulo City – Brazil. *Water, Air and Soil Pollution*, 189: 61-68.
- Alves, P.L. da C.A.; Oliva, M.A.; Cambraia, J.; Sant'Anna, R. 1990. Efeitos da chuva ácida simulada e de um solo de Cubatão (SP) sobre parâmetros relacionados com a fotossíntese e a transpiração de plantas de soja. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, 2(1):7-14.
- Borges, R. C. 2011. Caracterização química e radiológica do fosfogesso de Imbituba-SC e aspectos ambientais do uso na recuperação de solos agrícolas. 231f. Tese de doutorado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Niterói, RJ.
- Brighigna, L., Fiordi, A.C. & Palandri, M.R. 1984. Structural characteristics of mesophyll in some *Tillandsia* species. *Phytomorphology*, 34: 191-200.
- Calado, B.O. 2008. Geoquímica elementar e isotópica (Sr e Nd) como traçadores de poluentes antrópicos, caso de estudo: Fosfogesso de Cubatão (SP). 113f. Tese de mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental (CETESB). 2012. Relatório de qualidade do ar no Estado de São Paulo 2011. São Paulo. 120p. (Série Relatórios).
- Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental (CETESB). 1991. Degradação da cobertura vegetal da Serra do Mar em Cubatão: avaliação preliminar. São Paulo, 104p.
- Chaves, A.L.F.; Silva, E.A.M.; Azevedo, A.A.; Cano, M.A.O.; Matsuoka, K. 2002. Ação do flúor dissolvido em chuva simulada sobre a estrutura foliar de *Panicum maximum* Jacq. (Colonião) e *Chloris gayana* Kunth. (Capim-Rhodes) - Poaceae. *Acta Botânica Brasileira*, 16(4): 395-406.
- Correa, P.G. 2007. Defesas foliares em resposta à herbivoria em espécies lenhosas de restinga, Ipojuca-PE. 2007. 54f. Tese de mestrado, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE.
- Danilatos, G.D. 1998. Foundations of environmental scanning electron microscopy. *Advances in Electronics and Electron Physiology*, (71):109-250.
- De Temmerman, L., Bell, J.N.B., Garrec, J.P., Klumpp, A., Krause, G.H.M. & Tonneijck, A.E.G. 2004. Bio monitoring of air pollutants with plants – considerations for the future. In *Urban air pollution, bioindication and environmental awareness*. (A. Klumpp, W. Ansel & G. Klumpp, eds.). Cuvillier Verlag, Göttingen, p. 337-373.
- Esau, K. 1977. *Anatomy of seed plants*. 2 ed. John Wiley & Sons, New York. 550 p.
- Esch, A.; Mengel, K. 1998. Combined effects of acid mist and frost drought on the water status of young spruce trees (*Picea abies*). *Environmental and Experimental Botany*, (39):57-65.
- Fink, S. 1991. Unusual patterns in the distribution of calcium oxalate in spruce needles in their possible relationships to the impact of pollutants. *New Phytologist*, (119): 41-51.
- Fortes, C.; Duarte, A.P.; Matsuoka, S.; Hoffmann, H. P.; Lavorenti, N.A. 2003. Toxicidade de flúor em cultivares de milho em área próxima a uma indústria cerâmica, Araras (SP). *Bragantia*, 62(2):275-281.

- Franceschi, V.R. & Horner, H.T. 1980. Calcium oxalate crystals in plants. *Botanical Review*, 46(4): 361-427.
- Gerrits, P.O. 1991. The application of glycolmethacrylate in histotechnology: some fundamental principles. Groningen: Department of Anatomy and Embryology State University. 80 p.
- Gomes, M.P.; Marques, T.C.L.L.S.M.; Nogueira, M.O.G.; Silva, G.H.; Castro, E.M.; Soares, A.M. 2011. Efeitos dos rejeitos das indústrias de zinco na anatomia e crescimento de plantas jovens de *Salix humboldtiana* Willd. (salgueiro). *Hoehnea*, 38(1): 135-142.
- Jesus, S.L.; Arévalo, R. A.; Romão, G. O.; Rossi, M. L.; Coscione, A.R.; Nogueira, N. L. 2009. Potencial de utilização de *Cyperus rotundus* na descontaminação de áreas de descarte de resíduos industriais com elevados teores de metais. *Planta Daninha*, 27(4):641-645.
- Johansen, D. A. 1940. *Plant microtechnique*. New York: McGraw-Hill Book, 523 p.
- Karnovsky, M.J. 1965. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative in high osmolality for use in electron microscopy. *Journal of Cell Biology*, 27:137-138.
- Klumpp, A.; Domingos, M.; Klumpp, G. 1996. Assesment of the vegetation risk by fluorides emissions from fertiliser industries at Cubatão, Brazil. *The Science of the Total Environment*, (192):219-228.
- Kurczuska, E.U.; Dmuchowski, W.; Wloch.; Bytnerowicz. 1997. The influence of air pollutants on needles and stems of pine (*Pinus Sylvestris* L.) trees. *Environmental Pollution*, 3(98):325-334.
- Krauss, B.H. 1948. Anatomy of the vegetative organs of the pineapple, *Annanas comosus* (L.) Merr. *Botanical Gazette*, 110: 159-217.
- Lambers, H.; Chapin III, F.S. & Pons, T.L. 1998. *Plant Physiological Ecology*. New York, Springer-Verlag, 591p.
- Larcher, W. 2000. *Ecofisiologia Vegetal*. São Carlos. Editora RiMa. 531p.
- Lewis, M.G. 1972. The physiological significance of variation in leaf structure. *Science Progress*, 60: 25-51.
- Lichston, J.E.; Godoy, S.A.P. 2006. Morfologia e teor de cera de folhas de café após aplicação de fungicida. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 41(6):919-926.
- Lorenzi, H. 2001. *Plantas Ornamentais do Brasil: Arbustivas, Herbáceas e Trepadeiras*. 3ed. Instituto Plantarum, Nova Odessa. 1073p.
- Luz, C. A. da; Cheriaf, M.; Rocha, J.C.; Ambroise, J.; Pera, J. 2005. Estudo de um cimento com baixo impacto ambiental (BIA) a partir do clínquer sulfoaluminoso e do fosfogesso. *Ambiente Construído*, 5(4):7-27.
- Melo, H.C.; Castro, E.M.; Soares, A.M.; Melo, L.A.; Alves, J.D. 2007. Alterações anatômicas e fisiológicas em *Setaria anceps* Stapf ex Massey e *Paspalum paniculatum* L. sob condições de déficit hídrico. *Hoehnea*, 34:145-153.
- Mesquita, G.L.; Tanaka, F. A. O.; Cantarella, H.; Mattos Junior, D. 2011. Atmospheric absorption of fluoride by cultivated species. Leaf structural changes and plants growth. *Water, Air and Soil Pollution*, 219:143-156.
- Maranho, L.T.; Galvão, F.; Preussler, K.H.; Muñis, G.I.B.; Kuniyoshi, Y.S. 2006. Efeitos da poluição por petróleo na estrutura da folha de *Podocarpus lambertii* Klotsch ex Endl., Podocarpaceae. *Acta Botânica Brasileira*, 20(3):615-624.
- Oliveira, F.; Saito, M.L.; Chunzun, M. 1986. Caracterização morfológica de cana-do-brejo *Costus spiralis* (Jacquim) Roscoe - *Zingiberaceae* - *Costoideae*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 1(2):123-135.
- O'Brien, T.P., Feder N. & McCully, M.E. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue. *Protoplasma*, 59: 368-373.
- Paes, L. S.; Mendonça, M. S.; Barreto, A. M.; Izackson, R. R.; Cassino, M.F. 2009. Estudo da estrutura foliar de *Costus spicatus* SW. (Pobre-velho) numa perspectiva anatômica e fitoquímica. *In Anais do IV Congresso de pesquisa e inovação da rede norte e nordeste de educação tecnológica*, Belém, PA. Disponível em [http://connepi2009.ifpa.edu.br/connepi-anais/artigos/229\\_3019\\_795.pdf](http://connepi2009.ifpa.edu.br/connepi-anais/artigos/229_3019_795.pdf). Acesso em 25.04.12
- Pedroso, A. N. V.; Alves, E. S. 2008. Anatomia comparativa das cultivares de *Nicotiana tabacum* L. (Solanaceae) sensível e tolerante ao ozônio. *Acta Botânica Brasileira*, 22(1):21-28.
- Prychid, C.J.; Rudall, P.J. 1999. Calcium oxalate crystals in Monocotyledons: A review of their structure and systematics. *Annals of Botany*, 84(6):725-739.
- Pyykkö, M. 1966. The leaf anatomy of east Patagonian xeromorphic plants. *American Journal of Botany*, 68: 64-71.
- Sanches, R.A. 2004. Caieiras e Estação Ecológica Juréia-Itatins. Histórico de ocupação no contexto político, econômico, social e ambiental do Vale do Ribeira. *In Estação Ecológica Juréia-Itatins. Ambiente Físico, Fauna e Flora* (O.A.V. Marques, & W. Duleba, eds.). Holos Editora, Ribeirão Preto, São Paulo, p. 349-359.
- Sant'anna-Santos, B. F.; Duque-Brasil, R.; Azevedo, A. A.; Silveira, A. S.; Araújo, J. M.; Aguiar, R. 2007. Utilização de parâmetros morfoanatômicos na análise de fitotoxidez do flúor em folhas de *Magnolia ovata* (A. St.-Hil) Spreng. (Magnoliaceae). *Viçosa-MG. Revista Árvore*, 31(4):761-771.
- Seth, G.; Pritchard, H.H.R.; Stephen, A.P.; Curt, M.P. 1999. Elevated CO<sub>2</sub> and plant structure: a review. *Global Change Biology*, 5:807-837.
- Silva, J. M.; Martins, M. B. G.; Cavalheiro, A. J. 2010a. Caracterização anatômica e perfis químicos de folhas de *Avicennia schaueriana* Stapf. & Leech. Ex. Moldenke e *Rhizophora mangle* L. de manguezais impactados e não impactados do litoral paulista. *Revista de Botânica*, 39:14-33.
- Silva, J. M.; Martins, M. B. G.; Cavalheiro, A. J. 2010b. Caracterização anatômica e perfil químico da lâmina foliar de *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn, de manguezais impactados e não impactados do litoral de São Paulo. *Iheringia, Série Botânica*, Porto Alegre, 65(2):123-132.
- 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* and *Clusia hilariana*. *Water, Air and Soil Pollution*, 168:129-143.
- Smith, W.K.; Vogelmann, T.C.; DeLucia, E.H.; Bell, D.T. & Shepherd, K.A. 1997. Leaf form and photosynthesis. *Bioscience*, 11(47): 785-793.
- Soares, E.; Lima, L.A.; Mischan, M.M.; Mello, F.A.F.; Boaretto, A.E. 1983. Efeito da relação entre teores trocáveis de Ca e Mg do solo na absorção de K por plantas de centeio. *Revista de Agricultura*, 58:315-330.

