

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO- IF GOIANO – CAMPUS RIO VERDE - PROGRAMA DE
PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO

Tolerância de *Hancornia speciosa* Gomes (Apocynaceae) ao
fluoreto de potássio: aspectos fisiológicos e anatômicos

Autor: Thaís Andrade de Carvalho Silva

Orientador: Prof. Dr. Sebastião Carvalho Vasconcelos Filho

RIO VERDE -GO

Agosto – 2019

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO- IF GOIANO – CAMPUS RIO VERDE - PROGRAMA DE
PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO

Tolerância de *Hancornia speciosa* Gomes (Apocynaceae) ao
fluoreto de potássio: aspectos fisiológicos e anatômicos

Autor: Thaís Andrade de Carvalho Silva

Orientador: Prof. Dr. Sebastião Carvalho Vasconcelos Filho

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO, no Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde – Área de Concentração Conservação dos recursos naturais

RIO VERDE – GO

Agosto - 2019

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano

SSI586 Silva, Thais
t Tolerância de *Hancornia speciosa* Gomes
(Apocynaceae) ao fluoreto de potássio: aspectos
fisiológicos e anatômicos / Thais Silva; orientador
Sebastião Carvalho Vasconcelos Filho; co-orientador
Arthur Almeida Rodrigues. -- , 2019.
40 p.

Dissertação (em Mestrado em Biodiversidade e
Conservação) -- Instituto Federal Goiano, Campus ,
2019.

1. bioacumulador. 2. folhas-raízes. 3. mangaba. 4.
poluição atmosférica. I. Carvalho Vasconcelos Filho,
Sebastião, orient. II. Almeida Rodrigues, Arthur, co-
orient. III. Título.

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610/98, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, a disponibilizar gratuitamente o documento no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, em formato digital para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

Identificação da Produção Técnico-Científica

- | | |
|--|--|
| <input type="checkbox"/> Tese | <input checked="" type="checkbox"/> Artigo Científico |
| <input checked="" type="checkbox"/> Dissertação | <input type="checkbox"/> Capítulo de Livro |
| <input type="checkbox"/> Monografia - Especialização | <input type="checkbox"/> Livro |
| <input type="checkbox"/> TCC - Graduação | <input checked="" type="checkbox"/> Trabalho Apresentado em Evento |
| <input type="checkbox"/> Produto Técnico e Educacional - Tipo: _____ | |

Nome Completo do Autor: Thaís Andrade de Carvalho Silva

Matrícula: 2017202310840080

Título do Trabalho: Tolerância de *Hancornia speciosa* Gomes (Apocynaceae) ao fluoreto de potássio: aspectos fisiológicos e anatômicos.

Restrições de Acesso ao Documento

Documento confidencial: Não Sim, justifique: O artigo foi submetido na Revista Environmental Science and Pollution Research e não será disponível em acesso aberto, desta forma, solicitamos que não seja divulgado os resultados por um período de 3 anos.

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: 06/09/2022

O documento está sujeito a registro de patente? Sim Não
O documento pode vir a ser publicado como livro? Sim Não

DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O/A referido/a autor/a declara que:

- o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- obteve autorização de quaisquer materiais inclusos no documento do qual não detém os direitos de autor/a, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

Rio Verde / ____ / ____
Local Data

Thaís Andrade de Carvalho Silva
Assinatura do Autor e/ou Detentor dos Direitos Autorais

Ciente e de acordo:

Silviana C. V. Lobo
Assinatura do(a) orientador(a)


**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO, PESQUISA E INOVAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E
CONSERVAÇÃO**

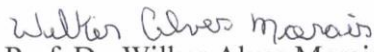
**TOLERÂNCIA DE *HANCORNIA SPECIOSA* GOMES
(APOCYNACEAE) AO FLUORETO DE POTÁSSIO: ASPECTOS
FISIOLÓGICOS E ANATÔMICOS**

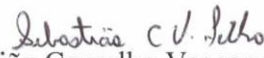
Autora: Thaís Andrade de Carvalho Silva
Orientador: Sebastião Carvalho Vasconcelos Filho

TITULAÇÃO: Mestre em Biodiversidade e Conservação – Área de
concentração Conservação dos Recursos Naturais.

APROVADA em 30 de agosto de 2019.


Prof.^a Dr.^a Juliana de Fátima Sales
Avaliadora interna
IF Goiano / Rio Verde


Prof. Dr. Wilker Alves Morais
Avaliador externo
IF Goiano / Rio Verde


Prof. Dr. Sebastião Carvalho Vasconcelos Filho
Presidente da Banca
IF Goiano / Rio Verde

DEDICATÓRIA

Aos meus pais José Oliveira da Silva e Maria Cristina Andrade de Carvalho Silva, ao meu irmão Thiago Andrade de Carvalho Silva e a todos meus amigos, em especial aqueles que convivi durante os anos do Mestrado.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por permitir que este sonho fosse realizado e ter me dado força, saúde e ter guiado minhas decisões nas horas mais difíceis durante esta caminhada.

Aos meus pais, José Oliveira da Silva e Maria Cristina Andrade de Carvalho Silva e meu irmão Thiago Andrade de Carvalho Silva, por todo apoio e que de forma direta e indireta contribuíram para a realização deste sonho.

Ao meu orientador Prof. Dr. Sebastião Carvalho Vasconcelos Filho, que muito ajudou durante esta trajetória, pelas orientações, ensinamentos, disponibilidade, compreensão e paciência, e serei eternamente grata.

Aos meus coorientadores Arthur Almeida Rodrigues e Leandro Carlos, pela confiança, ajuda, contribuições e por todo conhecimento transmitido durante o mestrado.

Ao laboratório de Anatomia Vegetal e Ecofisiologia Vegetal, por todo amparo para o desenvolvimento deste projeto.

Ao professor Efraim Lázaro Reis da Universidade Federal de Viçosa, pela ajuda com as análises.

Aos meus amigos, Douglas Almeida Rodrigues e Izadora Andrade Gonçalves, por toda contribuição neste projeto.

Estendo meus agradecimentos aos professores, coordenadores e colegas do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação, que me acompanharam durante essa jornada.

Ao Instituto Federal Goiano, que me deu a oportunidade de adquirir conhecimentos que vão contribuir para a minha trajetória pessoal e profissional.

BIOGRAFIA DO AUTOR

Thaís Andrade de Carvalho Silva, filha de José Oliveira da Silva e Maria Cristina Andrade de Carvalho Silva. Natural da cidade de Rio Verde – Goiás, nascida em 7 de setembro de 1992.

No ano de 2013 iniciou a Graduação em Ciências Biológicas no Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde, graduando-se em março de 2017.

Em agosto de 2017, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação do Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde a nível de Mestrado, previsto para concluir em agosto de 2019.

ÍNDICE

| | Página |
|---|--------|
| Agradecimentos..... | vi |
| Biografia..... | vii |
| Índice..... | viii |
| Índice de Tabelas..... | x |
| Índice de Figuras..... | xi |
| Lista de símbolos, siglas, abreviações e unidades..... | xii |
| | |
| Tolerância de <i>Hancornia speciosa</i> Gomes (Apocynaceae) ao fluoreto de potássio: aspectos fisiológicos e anatômicos..... | 1 |
| Resumo..... | 2 |
| Abstract..... | 4 |
| 1. Introdução..... | 6 |
| 2. Objetivo..... | 9 |
| 2.1 Geral..... | 9 |
| 2.2 Específicos..... | 9 |
| 3. Material e Métodos..... | 10 |
| 3.1 Material Vegetal, Condições de Cultivo e Aplicação dos Tratamentos..... | 10 |
| 3.2 Análise da superfície foliar..... | 11 |
| 3.3 Descrição microscópica..... | 11 |

| | | |
|-----|--|----|
| 3.4 | Histolocalização de compostos fenólicos..... | 11 |
| 3.5 | Avaliação da fluorescência da clorofila a..... | 12 |
| 3.6 | Determinação do teor de flúor..... | 12 |
| 3.7 | Análise estatística..... | 13 |
| 4. | Resultados..... | 13 |
| 4.1 | Análise da superfície foliar..... | 13 |
| 4.2 | Descrição microscópica..... | 13 |
| 4.3 | Histolocalização de compostos fenólicos | 16 |
| 4.4 | Fluorescência da clorofila a..... | 18 |
| 4.5 | Teor de flúor na matéria seca..... | 18 |
| 5. | Discussão | 19 |
| 6. | Conclusão..... | 21 |
| 7. | Referências..... | 22 |

ÍNDICE DE TABELA

| | |
|---|----|
| Tabela 1. Eficiência de operação do fotossistema II (Φ_{PSII}), rendimento quântico potencial do fotossistema II (F_v/F_m), taxa de transporte de elétrons (ETR), quenching não fotoquímico (qN) e coeficiente de extinção fotoquímica (qP) em plantas de <i>Hancornia speciosa</i> , após 40 dias de exposição à chuva simulada com fluoreto de potássio em diferentes concentrações (0, 4, 8 e 12 mg L ⁻¹) | 16 |
|---|----|

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Folhas de *Hancornia speciosa*, após 40 dias de exposição à chuva simulada com fluoreto de potássio: (A) controle, (B) 4 mg L⁻¹ KF, (C) 8 mg L⁻¹ KF e (D) 12 mg L⁻¹ KF. Barra de escala 3 cm. 12
- Figura 2.** Análise anatômica de folhas e raízes de *Hancornia speciosa*, após 40 dias de aplicação de fluoreto de potássio (A-B) controle, (C-D) 4 mg L⁻¹ KF, (E-F) 8 mg L⁻¹ KF e (G-H) 12 mg L⁻¹ KF. (AdEp) epiderme adaxial. (AbEp) epiderme abaxial. (PP) parênquima paliçádico. (SP) parênquima esponjoso. (Ep) epiderme. (CP) parênquima cortical. (Ph) floema. (Xy) xilema. Barra de escala 200 µm. 13
- Figura 3.** Acúmulo de fenóis nas folhas e raízes de *Hancornia speciosa* marcado na cor preta, após 40 dias de exposição à chuva simulada com fluoreto de potássio. (A-B) controle, (C-D) 4 mg L⁻¹ KF, (E-F) 8 mg L⁻¹ KF e (G-H) 12 mg L⁻¹ KF. (AdEp) epiderme adaxial. (AbEp) epiderme abaxial. (PP) parênquima paliçádico. (SP) parênquima esponjoso. Setas amarelas indicam acúmulo de compostos fenólicos. Barra de escala da esquerda 200 µm. Barra de escala da direita 100 µm. 15
- Figura 4.** Teor de flúor em raízes e folhas de *Hancornia speciosa*, após 40 dias de exposição à chuva simulada com fluoreto de potássio em diferentes concentrações. (0) controle, 4, 8 e 12 mg L⁻¹ KF. Média ± EP (n = 4). Asteriscos indicam diferenças a 1% (**) de probabilidade, em relação ao controle, pelo teste de Dunnett..... 17

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES

| | |
|---------------------------------------|--|
| %..... | Porcentagem |
| * | Probabilidade |
| °C..... | Graus Celsius |
| µg F/g..... | Micrograma de Flúor por grama |
| µm..... | Micrômetro |
| µmol | Micromolar |
| AbEp..... | Epiderme abaxial |
| AdEp..... | Epiderme adaxial |
| cm | Centímetro |
| CP..... | Parênquima cortical |
| CV..... | Coefficiente de Variação |
| Ep..... | Epiderme |
| ETR..... | Taxa de transporte de elétrons |
| F..... | Flúor |
| F _v /F _m | Rendimento quântico potencial do fotossistema II |
| HCl..... | Ácido Clorídrico |
| KF..... | Fluoreto de potássio |
| L..... | Litro |
| M..... | Molar |
| m ⁻² s ⁻¹ | Metros quadrados por segundo |

| | |
|------------------|---|
| mg L..... | Miligrama por Litro |
| NaOH..... | Hidróxido de Sódio |
| NS..... | Não Significativo |
| Ph | Floema |
| pH..... | Potencial Hidrogeniônico |
| PP..... | Parênquima paliçádico |
| <i>qN</i> | Quenching não fotoquímico |
| <i>qP</i> | Coefficiente de extinção fotoquímica |
| SP..... | Parênquima esponjoso |
| Xy..... | Xilema |
| Φ PSII..... | Eficiência de operação do fotossistema II |

Tolerância de *Hancornia speciosa* Gomes (Apocynaceae) ao
fluoreto de potássio: aspectos fisiológicos e anatômicos

RESUMO

SILVA, T. A. C. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde, agosto de 2019. **Tolerância de *Hancornia speciosa* Gomes (Apocynaceae) ao fluoreto de potássio: aspectos fisiológicos e anatômicos.** Orientador: Dr. Sebastião Carvalho Vasconcelos Filho. Coorientadores: Dr. Arthur Almeida Rodrigues; Dr. Leandro Carlos

O flúor (F) é considerado um dos poluentes de maior fitotoxicidade para o meio ambiente, mesmo que este esteja presente em baixa dosagem, visto que concentrações de $0,6 \mu\text{g m}^{-3}$ são tóxicas para espécies sensíveis. Quando disperso no ar o flúor pode ser disseminado a distância de 100 km da fonte poluidora, chegando as plantas, animais e seres humanos, causando sérios danos. No entanto, ainda são poucos os estudos sobre o efeito do fluoreto em espécies do Cerrado, identificando suas respostas morfológicas, anatômicas e fisiológicas. Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi investigar o efeito da chuva simulada com fluoreto de potássio (KF), nas folhas e raízes de *Hancornia speciosa* a fim de determinar seu potencial bioacumulador. Plantas jovens, com aproximadamente 45 dias de emergência foram tratadas diariamente com chuva simulada de KF em diferentes concentrações (0, 4, 8 e 12 mg L^{-1}) pelo período de 40 dias. O delineamento foi inteiramente ao acaso, composto por 4 tratamentos e 4 repetições. Após o período de exposição ao fluoreto de potássio, foram realizadas análises visuais, morfoanatômicas e de fluorescência da clorofila *a*, além de determinar o acúmulo de flúor na raiz e parte aérea. *Hancornia speciosa* não apresentou sintomas visuais, anatômicos e fisiológicos

em resposta ao flúor. A espécie acumulou compostos fenólicos em todos os tratamentos nas células radiculares e do mesofilo foliar. A preservação das características fisiológicas juntamente com o acúmulo de flúor nas raízes e folhas demonstraram ser importantes biomarcadores da tolerância da espécie ao flúor. Ademais, as características avaliadas demonstraram que *Hancornia speciosa* apresenta potencial de tolerância as doses testadas.

Palavras-chave: bioacumulador; folhas-raízes; mangaba; poluição atmosférica

ABSTRACT

SILVA, T. A. C. Goiano Federal Institute of Education Science and Technology – Campus Rio Verde, August 2019. **Tolerance of *Hancornia speciosa* Gomes (Apocynaceae) to potassium fluoride: Physiological and anatomical aspects.** Advisor: Dr. Sebastião Carvalho Vasconcelos Filho. Co-Advisor: Dr. Arthur Almeida Rodrigues; Dr. Leandro Carlos

Fluoride (F) is considered to be one of the most phytotoxic pollutants, even when present in low concentrations, since $0,6 \mu\text{g m}^{-3}$ concentrations are toxic to susceptible species. When dispersed in the air, fluoride can be transported to about 100 km from the polluting source, reaching plants, animals and humans and causing serious damage. However, few studies about the fluoride effect on Cerrado species concerning their morphological, anatomical and physiological responses are still scarce. Therefore, the aim of the present study was to investigate the effect of simulated rainfall containing potassium fluoride (KF) on *Hancornia speciosa* leaves and roots, in order to determine its bioindicator potential. Young plants at approximately 45 days of emergence were treated daily with simulated KF rain at different concentrations (0, 4, 8 and 12 mg L^{-1}) for 40 days. The experimental design was completely randomized, with 4 treatments and 4 replicates. After potassium fluoride exposure, visual, morphological and chlorophyll *a* fluorescence analyses were performed, alongside fluoride accumulation assessments in roots and shoots. *Hancornia speciosa* did not present any visual, anatomical and physiological symptoms in response to fluoride, while accumulating phenolic compounds in mesophyll

root and leaf cells in all treatments. Physiological characteristic preservation and fluoride accumulation in roots and leaves were proven to be important fluoride tolerance biomarkers in this species. In addition, the evaluated characteristics indicate that *Hancornia speciosa* displays a tolerance potential at the investigated doses.

Keywords: bioaccumulator; leaves and roots; mangaba; atmospheric pollution

1.Introdução

A qualidade do ar em países em desenvolvimento nos últimos anos tem se revelado uma preocupação ecológica. O ar é continuamente contaminado pelo rápido aumento do tráfego, emissão de gases tóxicos oriundos de veículos e indústrias e pela redução da cobertura da vegetação urbana (Kim et al. 2015; Santos et al. 2015).

Dentre os diversos poluentes lançados na atmosfera, o flúor é considerado um dos mais fitotóxicos para o ambiente, mesmo que este esteja presente em baixa dosagem (Jha et al. 2009), pois pode causar danos em espécies suscetíveis em concentrações atmosféricas 10 a 1.000 vezes menor (menos que 1 mg L^{-1}) que poluentes como o ozônio, dióxido de enxofre e óxidos de nitrogênio (Weinstein, 1977). O flúor é emitido na atmosfera em consequência da atividade de indústrias de fertilizantes fosfatados, usinas de alumínio, na fabricação de vidro, tijolo e cerâmica (Weinstein e Davison, 2004), através do uso de pesticidas que contêm flúor, combustão de carvão e combustível (Agalakova e Gusev, 2012) e no solo através de lançamentos de efluentes e irrigação com água fluorada que também é uma fonte difusa de fluoreto (Fawell, 2006; Bhatnagar et al. 2011), em áreas localizadas próximas às reservas permanentes do Cerrado (Fortes et al. 2003). A concentração do flúor na precipitação atmosférica varia de 1 a 10 mg L^{-1} em áreas industriais (Smith e Hodge 1979; Arndt et al. 1995). Na água de irrigação o flúor pode ser encontrado em concentrações de até 20 mg L^{-1} (Wen et al. 2013; Rahman et al. 2018). Ambas as formas de contaminação por flúor, têm mostrado um problema ecológico grave (Saini et al. 2012; Kumari e Khan, 2018). Por mais que alguns países apresentem regulamentos em relação a liberação da emissão de fluoreto, este continua a ser um problema que coloca em perigo a saúde humana e a conservação da biodiversidade (Walna et al. 2014).

Nas plantas, o flúor pode ser absorvido pelo sistema radicular e armazenado no apoplasto (parede celular e espaços intracelulares), quando disponível no solo. Em espécies tolerantes o F é acumulado e imobilizado, impedindo a translocação para a parte aérea (Baunthiyal e Sharma, 2014). No entanto a principal via de entrada do flúor é através das folhas, sendo este órgão vegetal o mais sujeito à ação deste poluente (Fornasiero, 2001), na forma gasosa, entra na folha através dos estômatos e se dissolve na água que permeia as paredes das células e quando disponível em solução aquosa, através da chuva pode penetrar por toda a superfície foliar (Chaves et al. 2002; Sant'Anna-Santos et al. 2014). Após entrar em contato com o flúor, espécies de plantas

sensíveis apresentam sintomas como cloroses e necrose marginal e apical nas folhas, alterações nos processos vitais da planta, como respiração e fotossíntese (Divan Júnior et al. 2007), deformação das células e colapso do parênquima (Singh-Rawal et al. 2010). Entretanto, é necessário ressaltar que algumas espécies de plantas podem tolerar elevadas concentrações desse elemento, sem apresentar sintomas visíveis (Pita-Barbosa et al. 2009). *Camellia sinenses*, por exemplo, é capaz de tolerar concentrações de fluoreto superiores a 200 µg F/g em condições ambientes livres de poluição (Reto et al. 2008).

Nesse cenário, para determinar o impacto do flúor na vegetação, o monitoramento ambiental, através do uso de espécies sensíveis ou tolerantes apresenta-se como um método barato e eficiente (Klumpp et al. 2001). A utilização de organismos com menor ocorrência ou ausência de danos visuais é justificável, visto que podem manifestar alterações a nível ultraestrutural (Temmerman et al. 2004). Sendo assim, em espécies tolerantes, é fundamental a detecção de alterações através de técnicas anatômicas, fisiológicas e ultraestruturais (Weinstein; Davison, 2003). O uso destas técnicas e análises são essenciais, pois são capazes de dar um diagnóstico preciso da ação e presença de poluentes, que não seria possível utilizando apenas dados baseados na análise de injúrias visuais, podendo subestimar o potencial de uma espécie ao biomonitoramento (Sant'Anna-Santos et al. 2007). Estudos são realizados para que se possa analisar e comparar respostas de diferentes espécies ao flúor, identificando aquelas que apresentam maior sensibilidade a esse poluente e sugeri-las como bioindicadoras de poluição atmosférica, enquanto espécies tolerantes podem ser utilizadas no reflorestamento de áreas afetadas pelo flúor (Oliva e Figueiredo, 2005).

O Brasil possui ampla diversidade vegetal, com plantas nativas que contêm potencial para serem utilizadas em processos de bioindicação (BFG, 2015). *Hancornia speciosa* por exemplo, é uma espécie frutífera do Cerrado, pertencente à família Apocynaceae que ocorre naturalmente em todo Brasil (Souza et al. 2005) e também é encontrada em países como Peru, Bolívia, Paraguai e Venezuela (Koch et al. 2014). Destaca-se pelos atributos organolépticos de seus frutos (Ferreira e Marinho, 2007), que são ricos em vitamina C, fósforo e lipídeos, podendo ser consumidos *in natura* e utilizados na indústria na fabricação de sorvetes, sucos, vinho, vinagre, licor e geleias (Gomes, 2012) além do valor econômico essa espécie apresenta potencial farmacológico, apresentando compostos bioativos que reduzem a concentração de glicose no sangue (Pereira et al. 2015). A exploração de *H. speciosa* é predominantemente extrativista, representando uma das espécies frutíferas mais ameaçadas pela erosão genética no Brasil,

sendo necessários meios eficazes para conservação dessa espécie (Moura et al. 2011; Sá et al. 2011). No entanto, ainda não existem estudos sobre o efeito do fluoreto em *H. speciosa*. Trabalhos sobre biomonitoramento são essenciais para explicar a qualidade ambiental, visto que a utilização de organismos como as plantas, possibilitam rápida interpretação das relações ecológicas envolvidas, pois respondem às diversas mudanças ambientais (Bagliano, 2012), além de que estudos fisiológicos e anatômicos são fundamentais para avaliar o potencial indicador ou de tolerância das plantas aos poluentes. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi investigar o efeito do fluoreto de potássio via chuva simulada, avaliando os órgãos vegetativos (folhas e raízes) de *H. speciosa* e determinar seu potencial bioacumulador.

2. Objetivos

2.1 Geral

Investigar o efeito do fluoreto de potássio via chuva simulada, avaliando os órgãos vegetativos (folhas e raízes) de *H. speciosa* e determinar seu potencial bioacumulador.

2.2 Específicos

- Avaliar os possíveis danos visuais nas folhas;
- Identificar as características anatômicas das raízes e folhas após os tratamentos com KF;
- Analisar as características de fluorescência da clorofila *a*
- Determinar o teor de flúor nas raízes e parte aérea;
- Identificar o potencial de tolerância de *H. speciosa* ao KF.

3. Material e Métodos

3.1. Material Vegetal, Condições de Cultivo e Aplicação dos Tratamentos

Frutos de *Hancornia speciosa* foram obtidos de 15 plantas adultas em plena produção, localizadas no município de Caçu, Goiás, Brasil (latitude: 18° 33' 24" S – longitude: 51° 07' 51" W e altitude: 469 m). Após a despolpa manual, as sementes foram semeadas em canteiros contendo areia lavada como substrato. O experimento foi conduzido em condições controladas monitorada por meio de um Data logger modelo SKDL-32, com sensor de temperatura e umidade relativa, apresentando umidade relativa média de 65 % (± 5) e temperaturas médias de 27 °C (± 5 , diurna) e 22 °C (± 5 , noturna), em casa de vegetação localizada no IF Goiano (latitude 17° 48' 16" S, longitude 50° 54' 19" W e altitude de 753 m).

Aproximadamente 30 dias após emergência, as plantas foram selecionadas com parâmetro de altura (~20 cm) e transferidas para vasos de 5 L (três plantas por vaso) contendo Bioplant[®] com as seguintes características: N – 8.6 g kg⁻¹; P – 0.2 g kg⁻¹; K – 0.3 g kg⁻¹; Ca – 1.3 g kg⁻¹; Mg – 2.9 g kg⁻¹; S - 0.9 g kg⁻¹. *A posteriori*, 15 dias de aclimação, as plantas foram expostas à aplicação diária de solução líquida de fluoreto de potássio (KF, pH 6,0) nas concentrações de 0 (controle), 4, 8 e 12 mg L⁻¹ com o objetivo de reproduzir a concentração de flúor estudada em áreas com exposição ao flúor (Smith e Hodge 1979). Os valores de pH das soluções foram ajustados com solução de HCl (2,0 M) e NaOH (2,0 M). A aplicação do flúor ocorreu mediante chuva simulada realizada com borrifadores manuais com aplicação diária de 160 mL dia⁻¹ nas folhas estipulado como suficiente para molhar toda a superfície da planta (Rodrigues et al. 2017). A aplicação do fluoreto de potássio foi realizada nas folhas escoando para o substrato, de forma que houvesse a simulação da exposição da planta ao poluente em condições naturais. Decorrido 40 dias de exposição aos tratamentos, foram realizadas avaliações visuais e fisiológicas, além da coleta de material vegetal para análises morfoanatômicas.

Utilizou-se delineamento inteiramente ao acaso (DIC) com 4 tratamentos (concentrações de KF) e 4 repetições, cada repetição composta de um vaso contendo 3 plantas (12 plantas por tratamento).

3.2. Análise da superfície foliar

Os aspectos visuais foram registrados por fotografias da superfície de folhas completamente expandidas de *Hancornia speciosa* registradas ao final do período experimental com câmera digital (Cyber-Shot SONY HX100V, Japão). Para a confecção da prancha utilizou-se a imagem que melhor representou a homogeneidade das demais folhas em relação ao tratamento.

3.3. Descrição microscópica

Para as análises morfoanatômicas coletou-se amostras de 1 cm da região apical das raízes e foliares de 3 cm² da região central da última folha totalmente expandida de todas as repetições (n=4) de cada tratamento (n=4) das plantas de *Hancornia speciosa*. Inicialmente o material vegetal foi fixado em solução Karnovsky (1965), por 24 horas. Em seguida, o material foi pré-lavado em solução tampão (0,1 M, pH 7,2) e desidratado em série etanólica crescente (30% a 100%), pré-infiltrado e infiltrado em historesina (Leica, Alemanha), conforme as recomendações do fabricante. Posteriormente, as amostras foram seccionadas transversalmente a 5 µm de espessura em micrótomo rotativo (Modelo 1508R, Logen Scientific, China) e para a coloração dos tecidos utilizou-se azul de toluidina - coloração metacromático (0,05% tampão fosfato 0,1 M, pH 6,8) (O'Brien et al. 1964). As imagens foram capturadas em microscópio Olympus (BX61, Tokyo, Japão) acoplado com câmera DP-72 utilizando opção de campo claro. Posteriormente, foram realizadas observações da epiderme (face adaxial e face abaxial), tecidos fundamentais (parênquima paliádico, parênquima esponjoso e parênquima de preenchimento) e vasculares (xilema e floema).

3.4. Histolocalização de compostos fenólicos

Para localização histoquímica de compostos fenólicos, amostras de 1 cm da região apical das raízes e foliares da região do meio da última folha totalmente expandida de *H. speciosa* foram fixadas em solução de sulfato ferroso em formalina durante 48 horas (Johansen, 1940). Após este período, o material foi pré-lavado em tampão fosfato (0,1 M, pH 7,2) e desidratado em série etílica crescente (30 a 100%), pré-infiltrado e infiltrado em historesina (Leica, Alemanha). *A posteriori*, as amostras foram seccionadas

transversalmente a 5 μm de espessura em micrótomo rotativo (Modelo 1508R, Logen Scientific, China) e analisadas em microscópio Olympus (BX61, Tokyo, Japão).

3.5. Avaliação da fluorescência da clorofila *a*

As variáveis da fluorescência da clorofila *a* foram mensuradas utilizando um fluorômetro (6400-40, Li-cor, Nebraska, EUA) acoplado ao IRGA (IRGA, LI-6400xt, Li-Cor, Nebraska, EUA) na última folha totalmente expandida. Inicialmente, as folhas foram adaptadas ao escuro (quando os centros de reação do FSII estão abertos) seguido da aplicação da luz de medição ($\sim 0.03 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e de um pulso de saturação ($> 3.000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), para obtenção da fluorescência mínima (F_0) e máxima (F_m), respectivamente. O rendimento quântico potencial do fotossistema II foi determinado como $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$ (Kitajima e Butler, 1975). Após iluminação com luz actínia contínua ($\sim 1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) por 40 s, um pulso de saturação foi aplicado para determinar a fluorescência máxima (F_m') e *steady-state* (F_s) nas folhas adaptadas à luz. A partir dos dados obtidos foi possível calcular a quantum efficiency of the photosystem II ($\Phi\text{PSII} = [F_m' - F]/F_m'$) (Genty et al. 1989), o rendimento quântico potencial do fotossistema II como $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$ (Kitajima e Butler, 1975), o coeficiente de extinção fotoquímico ($qP = [F_m' - F]/[F_m' - F_0']$), a dissipação não fotoquímica não regulada ($qN = [F_m - F_m']/[F_m - F_0]$) (Lichtenthaler et al. 2005), a taxa aparente de transporte de elétrons ($\text{ETR} = \Phi \text{FSII} \times \text{RFA} \times 0,5 \times 0,84$) (Maxwell e Johnson, 2000).

3.6. Determinação do teor de flúor

Para a quantificação do teor de flúor, foram coletadas amostras de folhas e raízes de todas as repetições ($n=4$) de cada tratamento ($n=4$) das plantas de *Hancornia speciosa* após 24 h da aplicação da última chuva simulada com fluoreto de potássio. As amostras foram lavadas em água deionizada, previamente secas em estufa, a 65°C , e reduzidas, em moinho do tipo Wiley, a partículas com dimensões inferiores a 1 mm. Posteriormente, alíquotas de 0,5 g de cada repetição foram submetidas à extração com 20 mL de ácido clorídrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, com agitação por 30 minutos à temperatura ambiente (25°C). Adicionou-se 10 mL de TISAB e fez-se as leituras em milivolts em potenciômetro (modelo 8519; Hanna Instruments®) com eletrodo específico para fluoreto (modelo 9609BNNP; Orion Research Incorporated EA 920, Massachusetts, EUA) e eletrodo de

referência de Ag/AgCl de camisa dupla, sob agitação magnética leve. O teor de flúor foi expresso em ($\mu\text{g/g}$).

3.7. Análise estatística

Os dados quantitativos obtidos foram submetidos as análises prévias de homogeneidade (Teste Levene) e normalidade dos erros (Teste Shapiro-Wilk). Com a normalidade dos dados confirmadas, foi realizada ANOVA, seguida do teste Dunnett para determinar diferenças significativas entre os tratamentos e o controle ($p < 0,05$).

4. Resultados

4.1. Análise da superfície foliar

H. speciosa apresenta folhas simples, glabras, brilhantes, coriáceas, com cerca de 7 - 10 cm de comprimento por 3 - 4 cm de largura de forma elíptica, oblonga ou elíptico-lanceolada e coloração esverdeada.

Durante o período experimental, não se observou danos nas folhas de *Hancornia speciosa* em nenhum dos tratamentos (Fig. 1).

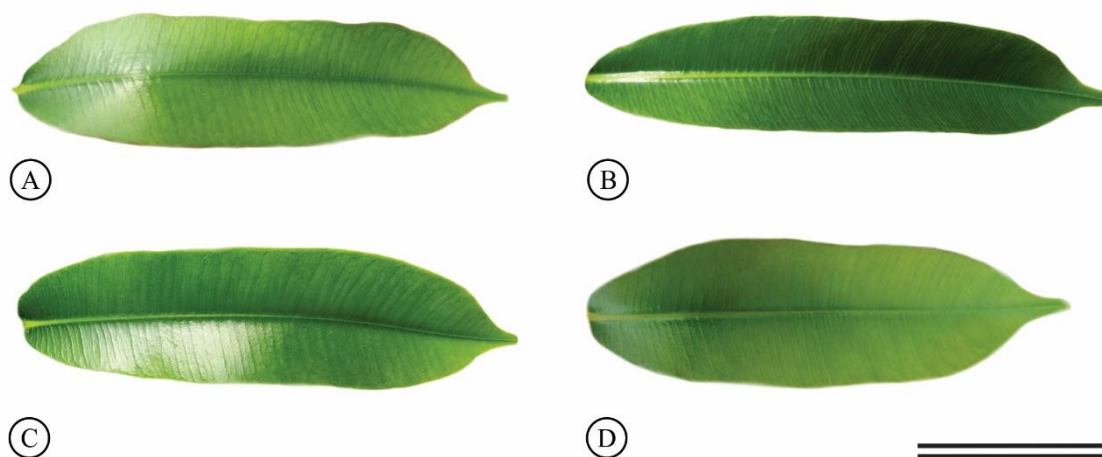


Fig. 1. Folhas de *Hancornia speciosa*, após 40 dias de exposição à chuva simulada com fluoreto de potássio: (A) controle, (B) $4 \text{ mg L}^{-1} \text{ KF}$, (C) $8 \text{ mg L}^{-1} \text{ KF}$ e (D) $12 \text{ mg L}^{-1} \text{ KF}$. Barra de escala 3 cm.

4.2. Descrição microscópica

Folha de *Hancornia speciosa* (Fig. 2 A), possui epiderme unisseriada, contendo estômatos na face abaxial, caracterizando a folha como hipoestomática. O mesofilo é constituído por parênquima clorofiliano do tipo dorsiventral, sendo o parênquima paliádico formado de duas camadas celulares, a segunda camada preenchida de forma irregular, o parênquima esponjoso é constituído por várias camadas, apresentando espaços intercelulares amplos. No mesofilo estão distribuídos feixes vasculares do tipo colateral (Fig. 2 A). *H. speciosa* não apresentou danos anatômicos em nenhum dos tratamentos com KF (Fig. 2 C, E e G).

A raiz de *H. speciosa* (Fig. 2 B), apresenta crescimento secundário, epiderme unisseriada, o córtex é constituído por várias células do parênquima de preenchimento, o cilindro vascular apresenta floema secundário voltado para a periferia e xilema secundário voltado para o centro envolvidos por parênquima (Fig. 2 B). Os tratamentos com KF não danificaram os tecidos das raízes (Fig. 2 B, D, F e H).

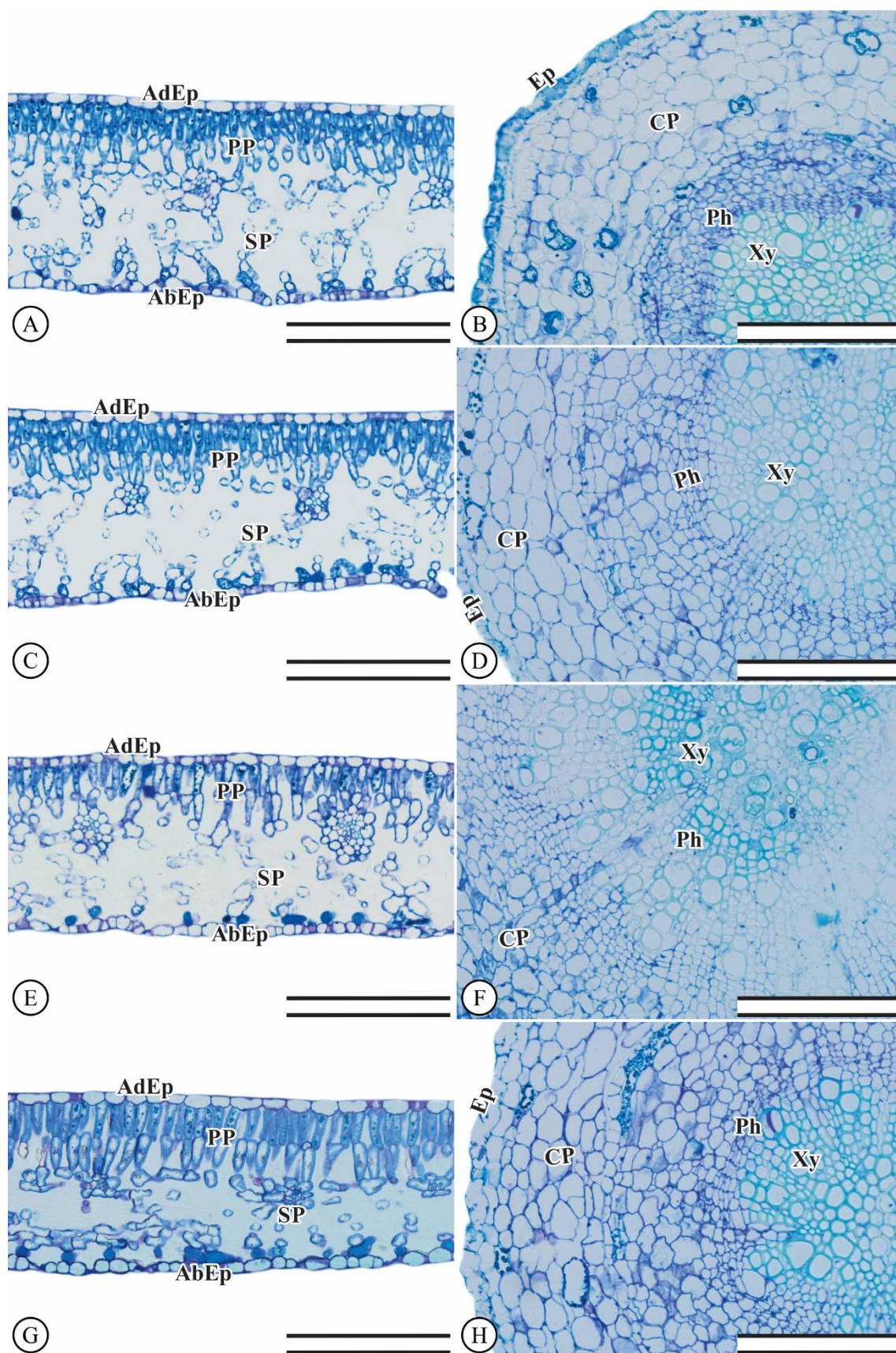


Fig. 2. Análise anatômica de folhas e raízes de *Hancornia speciosa* após 40 dias de aplicação de fluoreto de potássio (A-B) controle, (C-D) $4 \text{ mg L}^{-1} \text{ KF}$, (E-F) $8 \text{ mg L}^{-1} \text{ KF}$ e (G-H) $12 \text{ mg L}^{-1} \text{ KF}$. (AdEp) epiderme adaxial. (AbEp) epiderme abaxial. (PP)

parênquima paliçádico. (SP) parênquima esponjoso. (Ep) epiderme. (CP) parênquima cortical. (Ph) floema. (Xy) xilema. Barra de escala 200 μm .

4.3. Histolocalização de compostos fenólicos

Nas avaliações de acúmulo de compostos fenólicos, observou-se que para o tratamento controle, as células da raiz e folha possuem áreas marcadas pelo sulfato ferroso (Fig. 3 A-B). Nas plantas tratadas com KF foi evidente o maior acúmulo de compostos fenólicos na raiz, identificado pela coloração preta nas células epidérmicas e parenquimáticas conforme o aumento das doses de KF (Fig. 3D, F e H). No entanto, nas folhas o acúmulo de fenólicos foi constante com o incremento das doses de KF (Fig. 3 C, E e G).

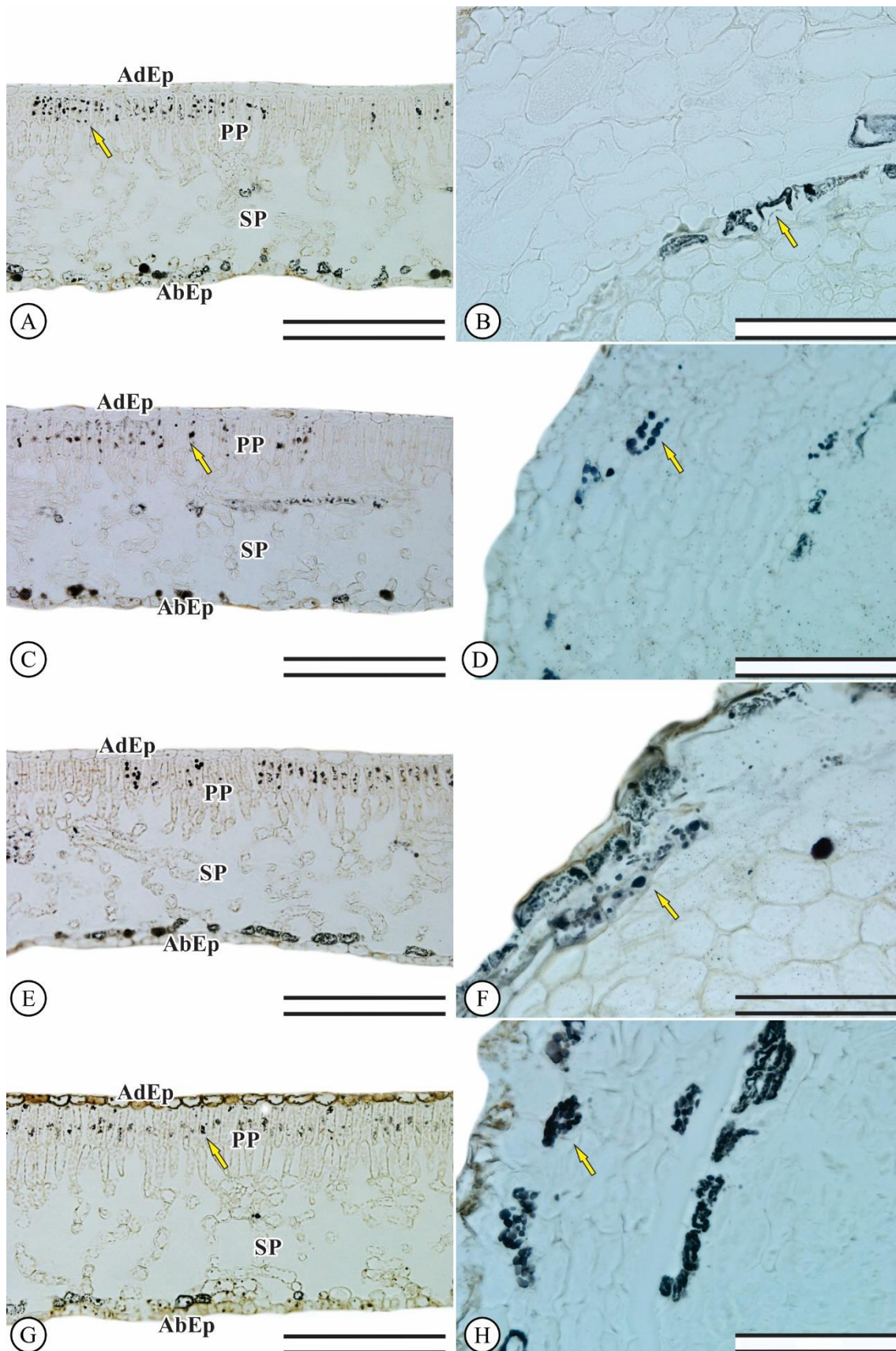


Fig. 3. Acúmulo de fenóis nas folhas e raízes de *Hancornia speciosa* marcado na cor preta, após 40 dias de exposição à chuva simulada com fluoreto de potássio. (A-B) controle, (C-D) 4 mg L⁻¹ KF, (E-F) 8 mg L⁻¹ KF e (G-H) 12 mg L⁻¹ KF. (AdEp) epiderme

adaxial. (AbEp) epiderme abaxial. (PP) parênquima paliçádico. (SP) parênquima esponjoso. Setas amarelas indicam acúmulo de compostos fenólicos. Barra de escala da esquerda 200 μm . Barra de escala da direita 100 μm .

4.4. Fluorescência da clorofila *a*

Para os parâmetros de fluorescência da clorofila *a* não houve diferença significativa na eficiência de operação do fotossistema II (Φ_{PSII}), rendimento quântico potencial do fotossistema II (F_v/F_m), taxa de transporte de elétrons (ETR) e coeficiente de extinção fotoquímica (qP), nas plantas submetidas aos tratamentos com KF, no entanto, observou-se diferença no quenching não fotoquímico (qN) (Tabela 1).

Tabela 1. Eficiência de operação do fotossistema II (Φ_{PSII}), rendimento quântico potencial do fotossistema II (F_v/F_m), taxa de transporte de elétrons (ETR), quenching não fotoquímico (qN) e coeficiente de extinção fotoquímica (qP) em plantas de *Hancornia speciosa*, após 40 dias de exposição à chuva simulada com fluoreto de potássio em diferentes concentrações (0, 4, 8 e 12 mg L^{-1}).

| KF (mg L^{-1}) | Φ_{PSII} | F_v/F_m | ETR | qN | qP |
|------------------------------|----------------------|-------------|--------------|-------------|--------------|
| 0 | 0.12±0.006 | 0.86±0.01 | 76.41±4.03 | 2.19±0.10 | 0.23±0.02 |
| 4 | 0.12±0.006 | 0.85±0.01 | 72.77±3.91 | 2.11±0.06 | 0.22±0.01 |
| 8 | 0.10±0.008 | 0.84±0.01 | 66.16±4.96 | 2.53±0.13 | 0.18±0.01 |
| 12 | 0.10±0.012 | 0.85±0.01 | 68.16±7.28 | 2.35±0.12 | 0.19±0.03 |
| F | NS | NS | NS | * | NS |
| CV (%) | 14.73 | 2.36 | 14.73 | 9.11 | 18.74 |

Média \pm EP (n = 4). Asteriscos indicam diferenças a 5% (*) de probabilidade, em relação ao controle, pelo teste de Dunnett. (NS) não significativo.

4.5. Teor de flúor na matéria seca

O teor de flúor encontrado na massa seca de folhas e raízes de *H. speciosa* foi significativamente maior na parte área (25 $\mu\text{g/g}$ e 39 $\mu\text{g/g}$) e radicular (36 $\mu\text{g/g}$ e 42 $\mu\text{g/g}$) expostas aos tratamentos de 8 e 12 mg L^{-1} KF quando comparadas ao controle (Fig. 4).

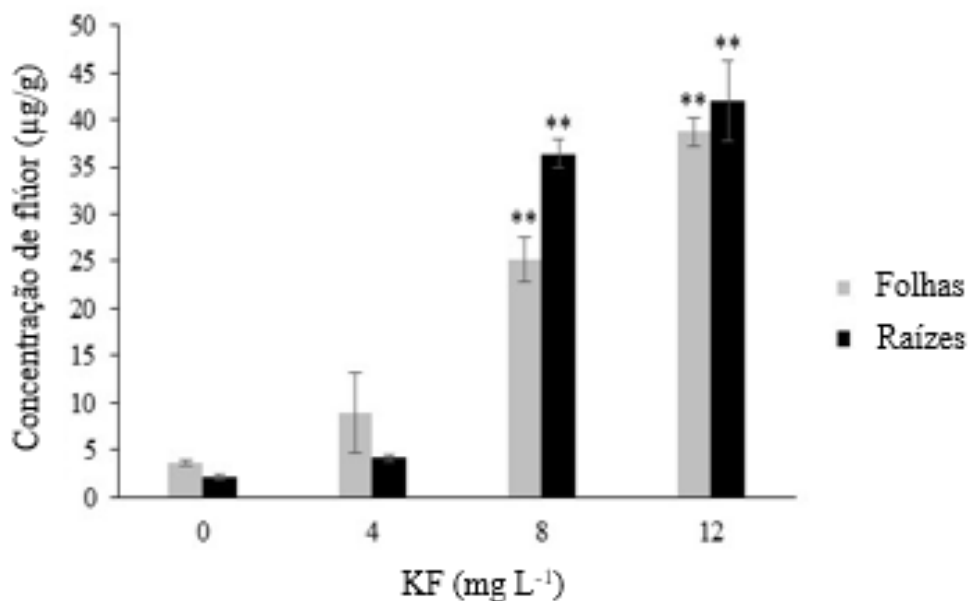


Fig. 4. Teor de flúor em raízes e folhas de *Hancornia speciosa*, após 40 dias de exposição à chuva simulada com fluoreto de potássio em diferentes concentrações. (0) controle, 4, 8 e 12 mg L⁻¹ KF. Média ± EP (n = 4). Asteriscos indicam diferenças a 1% (**) de probabilidade, em relação ao controle, pelo teste de Dunnett.

5. Discussão

Os sintomas visuais, anatômicos e fisiológicos são os primeiros indícios de toxicidade a exposição ao flúor em espécies sensíveis. Entretanto, pouco se sabe sobre os efeitos do F em plantas tolerantes (Zouari et al. 2017). Campos et al. (2010) trabalhando com *Plectranthus neochilus* e *Cymbopogon citratus* concluíram que essas espécies são capazes de acumular flúor em seus tecidos foliares sem apresentar danos visuais, como ocorreu neste estudo com *H. speciosa*. Em estudo com *Camellia sinensis* (Liu et al. 2012), pode-se concluir que a espécie é capaz de acumular concentrações superiores a 200 µg F/g nas folhas, não apresentando danos visuais e ultraestruturais. A ausência de danos visuais, anatômicos e fisiológicos pode ser explicada através do mecanismo em que o flúor, foi imobilizado nas paredes celulares e compartimentado nos vacúolos, reduzindo a toxicidade ao flúor e aumentando o teor de flúor nas folhas. Acredita-se que o fluoreto pode ser parcialmente adsorvido nas paredes celulares, atuando como barreira, limitando a entrada nos protoplastos e acumulando nos vacúolos servindo como armazenamento final para componentes tóxicos, como metais pesados, removendo o fluoreto dos locais

mais sensíveis das células (Gao et al. 2016; Schneider et al. 2009). No entanto, os mecanismos moleculares que regem a acumulação/desintoxicação de flúor ainda não foram esclarecidos.

Foram observados aumento de compostos fenólicos após a exposição aos tratamentos com fluoreto de potássio, este, apresenta-se como um indicativo de acúmulo de flúor nas plantas (Fornasieiro, 2001). O mesmo ocorreu em estudo semelhante realizado com *Eugenia dysenterica* exposta a chuva simulada com flúor (Rodrigues et al. 2017) e com *Psidium guajava* exposta ao ozônio (Alves et al. 2016). O acúmulo de compostos fenólicos é um importante indicador de estresse oxidativo na planta (Louback, 2016; Wohlgemuth et al. 2002). Esse estresse pode provocar alterações fisiológicas levando ao aumento na produção de EROs e danos celulares, quando não há mecanismos de proteção capazes de dissipar a energia excessiva e diminuir os compostos da cadeia transportadora de elétrons (Sales et al. 2013). Assim, o desenvolvimento de características adaptativas, são fundamentais para contribuir na manutenção do tecido vegetal, atuando na desintoxicação (Günthardt-Goerg e Vollenweider, 2007).

A análise da fluorescência da clorofila *a*, constitui um indicador significativo da funcionabilidade do fotossistema II (Lüttge, 2008), uma vez que o estado funcional das membranas do tilacoide pode ser modificado por um determinado agente estressor (Baker e Rosenqvist, 2004). As características de F_v/F_m , quenchings fotoquímico (qP), eficiência fotoquímica efetiva do PSII, taxa de transporte de elétrons (ETR), têm sido fundamentais para compreender o funcionamento do aparato fotossintético (Liu et al. 2012; Sales et al. 2013). Dessa forma, a ausência de variação significativa das variáveis F_v/F_m , qP e ETR em *H. speciosa*, é um indicativo de que o flúor não afetou a conversão de energia radiante em química nos centros de radiação do PSII e o transporte de elétrons na cadeia fotossintética (Krause e Weis, 1991; Rodrigues et al. 2018). O aumento de qN ocorre sob efeito de agentes estressores nas plantas (luz excessiva, alteração de temperatura, metais pesados). Este aumento está relacionado à perda de parte significativa da energia de excitação absorvida na forma de calor, um mecanismo de proteção e regulatório que envolve modificações na conformação das membranas dos tilacoides desencadeados pelo gradiente de pH transtilacoidal, estados de transição e pela fotoinativação do fotossistema II (Roháček; Soukupová; Barták, 2008). Em *H. speciosa*, o quenching não fotoquímico (qN) apresentou acréscimo com as crescentes concentrações de flúor, porém as funções da planta não foram comprometidas, mantendo-se preservadas.

O tratamento controle apresentou teor de flúor, entretanto houve alto acúmulo nas folhas e raízes, após a chuva simulada com flúor. O acúmulo de flúor nas plantas resulta da absorção do flúor do solo e da água (Gritsan et al. 1995). Mesmo em ambientes não contaminados, é normal encontrar níveis de flúor até $20 \mu\text{g g}^{-1}$ nas folhas (Franzaring et al. 2006), que justifica a presença de flúor no tratamento controle (Mesquita et al. 2011), o fato de conter concentrações de flúor no substrato utilizado também pode ter interferido nas taxas de flúor encontradas no tratamento controle. Sendo as raízes os órgãos vegetativos que mais acumularam o poluente nos tratamentos com 8 e 12 mg L^{-1} . O mesmo foi observado por Zouari et al. (2017) em plantas jovens de azeitonas e Patra (2015) em plantas de arroz (*Oryza sativa*) tratadas com flúor. O elevado teor de flúor nas raízes pode estar correlacionado com o sequestro de F para os vacúolos das raízes (Zouari et al. 2017).

H. speciosa acumulou alta taxa de flúor, porém não apresentou danos visíveis. O mesmo ocorreu com *Lolium multiform*, apesar de conter concentrações elevadas de $180 \mu\text{g g}^{-1}$ nas folhas, não apresentaram injúrias visuais (Mesquita et al. 2011). Isso mostra que a ocorrência de danos visuais não está associada à concentração de flúor, porém à resposta específica de cada organismo ao poluente.

6. Conclusão

Hancornia. speciosa, tem características bioacumuladoras, não apresentando sintomas visuais, anatômicos e fisiológicos. A espécie apresentou aumento de compostos fenólicos e acumulou flúor nos órgãos vegetativos (raízes e folhas), quando exposta nas concentrações de 4, 8 e 12 mg L^{-1} , demonstrando ser biomarcadores importantes da tolerância da espécie ao fluoreto de potássio. Dessa forma, as avaliações mostraram que *H. speciosa* pode ser utilizada como espécie acumuladora em ensaios de monitoramento de áreas contaminadas com flúor.

7. Referências

- Agalakova N, Gusev PG (2012) Fluoride induces oxidative stress and ATP depletion in the rat erythrocytes in vitro. *Environ Toxicol Pharmacol* 34 (2): 334-337 Doi. 10.1016/j.etap.2012.05.006
- Alves ES, Moura BB, Vaz Pedroso AN, Tresmondi F, Machado SR (2016) Cellular markers indicative of ozone stress on bioindicator plants growing in a tropical environment. *Ecol Indic* 67, 417-424 Doi. 10.1016/j.ecolind.2016.03.011
- Arndt U, Flores F, Weinstein L (1995) Efeitos do flúor sobre as plantas: diagnose de danos na vegetação do Brasil. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 155
- Bagliano RV (2012) Principais organismos utilizados como bioindicadores relatados com uso de avaliadores de danos ambientais. *Rev Meio Ambiente e Sustentabilidade* 2, 1. Disponível em: <https://www.uninter.com/revistameioambiente/index.php/meioAmbiente/article/view/113/50> Acesso em: 16 de março de 2019
- Baker NR, Rosenqvist E (2004) Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *J Exp Bot* 55 (403): 1607-1621 Doi. 10.1093/jxb/erh196
- Baunthiyal M, Sharma V (2014) Response of three semi-arid plant species to fluoride; consequences for chlorophyll fluorescence. *Int J Phytoremediat* 16 (4), 397–414 Doi. 10.1080/15226514.2013.783790
- BFG (2015) Knowledge growth: an overview of the diversity of seed plants in Brazil. *Rodriguesia* 66, 1085-1113 Doi. 10.1590/2175-7860201566411
- Bhatnagar A, Kumar E, Silanpaa M (2011) Fluoride Removal from Water by Adsorption-A Review. *Chem Eng J* 171, 811–840 Doi. 10.1016/j.cej.2011.05.028
- Campos NV, Azevedo AA, Sant'anna-Santos (2010) Acúmulo e efeitos fitotóxicos do flúor em folhas de boldo-gambá e capim-cidreira utilizadas para chás. *Pesq Agrop Bras* 45 (7): 646-653 Doi. 10.1590/S0100-204X2010000700003
- Chaves ALF, Silva EAM, Azevedo AA, Cano MAO, 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 Bot Bras* 16, 395-406 Doi. 10.1590/S0102-33061997000200030
- Divan Junior AM, Oliva MA, Martinez CA, Cambraia J (2007) Effects of fluoride emissions on two tropical grasses: *chloris gavana* and *Panicum maximum*, cv. Colonião. *Ecotoxicol Environ Saf* 67, 247-253 Doi. 10.1016/j.ecoenv.2006.06.002
- Fawell J, Bailey K, Chilton J, Dahi E, Fewtrell L, Magara Y (2006) Fluoride in drinking water, WHO, IWA publishing 1-144

Ferreira EG, Marinho SJO (2007) Produção de frutos da mangabeira para consumo in natura e industrialização. *Tecnol e Ciên. Agropec João Pessoa* 1 (1): 9-14

Fornasiero RB (2001) Phytotoxic effects of fluorides. *Plant Sci* 161, 979-985 Doi. 10.1016/S0168-9452(01)00499-X

Fortes C, Duarte AP, Matsuoka S, Hoffmann HP, Lavorenti NA (2003) Fluoride toxicity in corn cultivars in an area near a ceramic industry, Araras (SP). *Bragantia* 62, 275–281 Doi. 10.1590/S0006-87052003000200013

Franzaring, J, Hrenn H, Schumm C, Klumpp A, Fangmeier A (2006) Environmental monitoring of fluoride emissions using precipitation, dust, plant and soil samples. *Environ Pollut Barking* 144 (1): 158-165 Doi. 10.1016/j.envpol.2005.12.033

Gao HM., Zhu J, Li PP, Ni DJ (2016) Research on adsorption characteristics of tea polysaccharides to fluorine. *J Tea Sci* 36, 396-404

Genty B, Briantais JM, Baker NR (1989) The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim Biophys Acta* 990: 87–92

Gomes RP (2012) *Fruticultura Brasileira*. 13^a ed – 7^a reimpressão São Paulo: Nobel, 446

Gritsan NP, Miller GM, Schumatkov GG (1995) Correlation between heavy metals and fluoride in soil, air and plants in relation to environmental damages. *Fluoreto* 28, 180-188

Günthardt-Goerg MS, Vollenweider P (2007) Linking stress with macroscopic and microscopic leaf response in trees: new diagnostic perspectives. *Environ Pollut* 147, 467-488 Doi. 10.1016/j.envpol.2006.08.033

Jha SK, Nayak AK, Sharma YK (2009) Fluoride toxicity effects in onion (*Allium cepa* L.) grown in contaminated soils. *Chemosphere* 76, 353-356. Doi. 10.1016/j.chemosphere.2009.03.044

Karnovsky MJA (1965) formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. *J Cell Biol* 27 (2): 137–138

Kim BM, Park JS, Santos W (2015) Source apportionment of PM₁₀ mass and particulate carbon in the Kathmandu Valley. *Atmos Environ* 123, 190-199. Doi. 10.1016/j.atmosenv.2015.10.082

Klumpp A, Ansel W, Klumpp G, Fomin A (2001) Um novo conceito de monitoramento e comunicação ambiental: a rede européia para avaliação da qualidade do ar usando plantas bioindicadoras (Eurobionet). *Rev Bras Bot* 24: 511-518 Doi. 10.1590/S0100-84042001000500005

Koch I, Rapini A, Kinoshita LS, Simões AO, Spina AP, Castello ACD (2014) Apocynaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br;jabot/floradobrasil/FB15558> Acesso em 30 de março de 2019

Krause GH, Weis E (1991) Chlorophyll fluorescence and photosyntheses: the basics. Annual Rev of Plant Phys and Plant Mol Biol Palo Alto 42, 313-349 Doi. 10.1146/annurev.pp.42.060191.001525

Kumari S, Khan S (2018) Effect of Fe₃O₄ NPs application on fluoride (F) accumulation efficiency of *Prosopis juliflora*. Ecotox Environ Safe 166, 419–426 Doi. 10.1016/j.ecoenv.2018.09.103

Lichtenthaler HK, Buschmann C, Knapp M (2005) How to correctly determine the different chlorophyll fluorescence parameters and the chlorophyll fluorescence decrease ratio R_{Fd} of leaves with the PAM fluorometer. Photosynthetica 43 (3): 379-393

Liu M, Qi H, Zhang ZP, Song, ZW, Kou, TJ, Zhang WJ, Yu JL (2012) TMT-based quantitative proteomics analysis reveals the response of tea plant (*Camellia sinensis*) to fluoride. Afr J Agric Res 7, 4571-4760 Doi. 10.5897/AJAR12.082

Louback E, Pereira TAR, Souza RS, Oliveira JA, Silva LC (2016) Vegetation damage in the vicinity of an aluminum smelter in Brazil. Ecol Indic 64, 193 – 203 Doi. 10.1016/j.ecolind.2016.02.044

Lüttge U (2008) Physiological ecology of tropical plants (2nd ed.). Springer-Verlag, Berlin

Mesquita GL, Ossamu Tanaka FA, Cantarella H, Dirceu Mattos Jr (2011) Atmospheric absorption fluoride by cultivated species: leaf structural changes and plant growth. Water, Air and Soil Pollut. Dord. 219 (1): 143-156

Moura NF, Chaves LJ, Venkovsky R, Naves RV, Aguiar AV, Moura, MF (2011) Genetic structure of mangaba (*Hancorina speciosa* Gomes) populations in the Cerrado region of central Brazil. Bioscience Journal, (27) 473-481

O'Brien TP, Feder N, McCully ME (1964) Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue. Protoplasma 59 2: 368-373

Oliva MA, Figueiredo, JG (2005) Gramíneas bioindicadoras da presença de flúor em regiões tropicais. Revista Brasileira de Botânica, São Paulo, (8): 389-397

Pereira AC, Pereira AB, Moreira CC, Botion LM, Lemos VS, Braga FC, Cortes SF (2015) *Hancornia speciosa* Gomes (Apocynaceae) as a potential anti-diabetic drug. Journal of Ethnopharmacology, 161, 30-35

Pita-Barbosa A, Sant'Anna-Santos BF, Silva KLF, Azevedo AA, Rocha DI (2009) Efeitos fitotóxicos do fluoreto na morfoanatomia foliar de *Brachiaria brizantha* (Hochst.ex A.Rich) Stapf e *Brachiaria decumbens* Stapf (Poaceae). Acta Bot Bras 23 (4): 1027-1033 Doi 10.1590/S0102-33062009000400012

Rahman ZU, Khan B, Ahmada I, Mian IA, Saeed A, Afaq A, Khan A, Smith P, Mianh AA (2018) A review of groundwater fluoride contamination in Pakistan and an assessment of the risk of fluorosis. Fluoride 51 (2): 171-181

Reto M, Figueira ME, Filipe HM, Almeida CMM (2008) Teor de fluoreto em infusões de chá verde (*Camellia sinensis*). Quim Nova 31 (2): 317-320 Doi. 10.1590/S0100-40422008000200024

Rodrigues AA, Vasconcelos-Filho SC, Mendes GC, Rehn LS, Rodrigues DA, Rodrigues CL, Müller C (2017) Fluoride in simulated rain affects the morphoanatomy and physiology of *Eugenia dysenterica* (Mart.) DC. Ecol Indic 82, 189-195 Doi. 10.1016/j.ecolind.2017.07.005

Rodrigues DA, Vasconcelos-Filhos SC, Rodrigues AA, Müller C, Farnese FS, Costa AC, Teles EMG, Rodrigues CL (2018) *Byrsonima basiloba* as a bioindicator of simulated air pollutants: Morphoanatomical and physiological changes in response to potassium fluoride. Ecol Indic 89, 301-308 Doi. 10.1016/j.ecolind.2018.02.019

Roháček K, Soukupová J, Barták M. Chlorophyll fluorescence: a wonderful tool to study plant physiology and plant stress. Research Signpost, Trivandrum, (2) 41-104, 2008

Sá AJ, Lédo AS, Lédo CAS (2011) Conservação *in vitro* de mangabeira da região nordeste do Brasil. Revista Ciência Rural, (41) 57-62

Saini P, Khan S, Baunthiyal M, Sharma V (2012) Organ-wise accumulation of fluoride in *Prosopis juliflora* and its potential for phytoremediation of fluoride contaminated soil. Chemosphere 89, 633-635 Doi. 10.1016/j.chemosphere.2012.05.034

Sales CRG, Marchiori PER, Machado RS, Fontenele AV, Machado EC, Silveira JAG, Ribeiro RV (2013) Photosynthetic and antioxidant responses to drought during the sugarcane ripening. Photosynthetica 53 (4): 547-554

Sant'Anna-Santos BF, Azevedo AA (2007) Aspectos morfoanatômicos da fitotoxidez do flúor em duas espécies arbóreas tropicais. Revista Brasileira de Biociências, Porto Alegre, (5) 48-50.

Sant'Anna-Santos BF, Azevedo AA, Alves TG, Campos NV, Oliva MA, Valente VMM (2014) Effects of emissions from an aluminium smelter in a tree tropical species sensitive to fluoride. Water Air Soil Pollut 225, 1817 Doi. 10.1007/s11270-013-1817-5

Santos APM, Segura-Muñoz SI, Nadal M, Schuhmacher M, Domingo JL, Martinez CA, Magasso Takayanagui AM (2015) Traffic-related air pollution biomonitoring with *Tradescantia pallida* (Rose) Hunt. cv. Purpurea. Boom in Brazil. Environ Monit Assess Doi. 10.1007/s10661-014-4234-3

Singh-Rawal P, Jajoo A, Bharti S (2010) Fluoride affects distribution of absorbed excitation energy more in favour of photosystem I. Planta Biol 54, 556-560

Smith FA, Hodge HC (1979) Airborne fluorides and man: part I. Crit Rev Environ Control 8: 293-371

Temmerman L, Bell NB, Garrec Jean-Pierre, Klumpp A, Krause, GHM, Tonneijck AEG (2004) Biomonitoring of air pollutants with plants: considerations for the future. Göttingen: Cuvillier Verlag, 337-374.

Walna B, Kuzycza I, Bednorz E, Kolendowicz L (2014) Fluoride pollution from atmospheric precipitation and its relation to air circulation and weather patterns (Wielkopolski National Park, Poland). *Environ Monit Avaliar* 185, 5497-5514 Doi. 10.1007/s10661-012-2962-9

Weinstein LH (1977) Fluoride and plant life. *J Occup Med* 19, 49-78. Doi 10.1097/00043764-197701000-00005

Weinstein LH, Davison AW (2004) Native plants species suitable as bioindicators and biomonitors for airborne fluoride. *Environmental Pollution, Barking*, 125, 3-11.

Weinstein LH, Davison A (2004) Fluorides in the environment: effects on plants and animals. Oxford: CABI Publishing 287 Doi. 10.1079/9780851996837.0000

Wen D, Zhang F, Zhang E, Wang C, Han S, Zheng Y (2013) Arsenic, fluoride and iodine in groundwater of China. *J Geochem Explor* 135 Doi. 16/j.gexplo.2013.10.012

Zouari M, Elloumi N, Bellassoued K, Ben Ahmed C, Krayem M, Delmail D, Elfeki A, Ben Abdallah F, Labrousse P (2017) Enzymatic antioxidant responses and mineral status in roots and leaves of olive plants subject to fluoride stress. *South Africa J Bot* 111, 44-49 Doi. 10.1016/j.sajb.2017.03.039