

Efeito da poluição atmosférica em folhas de *Tibouchina granulosa* (Desr.) Cogn. (Melastomataceae)

Effect of air pollution in leaves of the Tibouchina granulosa (Desr.) Cogn. (Melastomataceae)

João Carlos Ferreira de Melo Júnior¹

Charlin Manoel Raimundo¹

Maick Wiliam Amorim¹

Laboratório de Anatomia Vegetal, Departamento de Ciências Biológicas

Universidade da Região de Joinville (Univille)

Rua Paulo Malschitzki, n. 10 – Zona Industrial

CEP 89219-710 – Joinville, SC, Brasil

Autor para correspondência: jcmelo_wood@hotmail.com

RESUMO

A cidade de Joinville, localizada na região nordeste de Santa Catarina, é considerada o principal polo industrial do estado, contando com mais de 1.400 indústrias dos setores metal-mecânico, de plásticos e têxtil. Alterações na qualidade do ar atmosférico pela emissão de gases e particulados são precursoras de injúrias em espécies vegetais. O presente estudo investigou atributos foliares de *Tibouchina granulosa* (Desr.) Cogn. (Melastomataceae) em três áreas distintas do município, com o objetivo de verificar a ocorrência de alterações morfológicas e anatômicas por meio do método de biomonitoramento passivo. Em cada área foram coletadas 25 folhas de sol em 10 indivíduos, totalizando um grupo amostral de 30 plantas. Diferenças foram observadas para todos os atributos foliares estudados entre as três áreas amostrais. As principais alterações encontradas referem-se a área foliar, espessura dos tecidos fotossintéticos e espessura total do limbo foliar. Os indivíduos da área controle apresentaram as maiores médias para quase todos os atributos foliares considerados, o que reflete uma melhor condição do ar atmosférico local. As diferenças estruturais percebidas podem ser resultantes dos efeitos da poluição atmosférica ocasionada pela emissão de gases e outros materiais poluentes.

Palavras-chave: Morfologia foliar; anatomia foliar; biomonitoramento passivo; contaminantes do ar.

ABSTRACT

Joinville is located in the northeast of Santa Catarina State, Brazil, and is considered a main industrial center, with over 1,400 metal-mechanical, textile and plastics industries. Changes in air quality as the emission of gaseous and particulate materials, may result in injuries to several plant species. The present study investigated leaf traits of *Tibouchina granulosa* (Desr.) Cogn. (Melastomataceae) in three areas with distinct air quality, in order to verify the occurrence of morphological and anatomical changes through the method of passive biomonitoring points. 25 sun leaves in 10 subjects (n = 30) were collected at each point. Differences were observed for all studied leaf traits among the three sampling points. The primary findings refer to leaf area, thickness of photosynthetic tissues, and total leaf thickness. Individuals from the control area had the highest averages for almost all leaf traits reflecting the better condition of the local atmospheric air. The structural differences may result from the effects of air pollution caused by the emission of gaseous pollutants and other materials by emission sources.

Keywords: Leaf morphology; leaf anatomy; passive biomonitoring; air contaminants.

Recebido: 13 mar. 2014

Aceito: 28 maio 2014

¹ Laboratório de Anatomia Vegetal, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade da Região de Joinville (Univille).

INTRODUÇÃO

As mudanças na composição gasosa da atmosfera terrestre e suas consequências sobre os ecossistemas tornaram-se atualmente uma das grandes preocupações dos ecologistas. A revolução industrial e os avanços tecnológicos, o aumento da população e a urbanização aceleraram o consumo de combustíveis fósseis, os principais responsáveis pela degradação da atmosfera terrestre. As substâncias desprendidas para o ar espalham-se e podem acabar agindo sobre o homem, os animais e as plantas (MIGUEL, 1992 [35]; ANDRADE JR. *et al.*, 2008 [3]).

Nas plantas, a poluição atmosférica pode ser responsável por sérias injúrias, causando-lhes alterações estruturais e funcionais. A extensão em que as funções vitais dos vegetais são afetadas pelos poluentes, e se há danos visíveis, depende de muitos fatores, tanto bióticos como abióticos. O dióxido de enxofre (SO₂), o óxido de nitrogênio, o ozônio, o peroxiacetil nitrato e as halidas de hidrogênio são tidos como os poluentes mais deletérios para as plantas. Outras substâncias menos danosas carregadas pela atmosfera são a amônia, os hidrocarbonetos, a fumaça de alcatrão, a fuligem e a poeira (LARCHER, 2006 [28]).

Plantas submetidas a poluentes aéreos podem apresentar alterações na área dos feixes vasculares (MASUCH *et al.*, 1992 [33]; ALVES *et al.*, 2001 [1]; REIG-ARMIÑANA *et al.*, 2004 [47]), colapso das células do floema (MASUCH *et al.*, 1992 [33]; SODA *et al.*, 2000 [51]), aumento ou redução na densidade dos tricomas (DIAS *et al.*, 2010 [10]), células hipertrofiadas ou colapsadas do mesófilo (MASUCH *et al.*, 1992 [33]; MOURA; SOUZA; ALVES, 2011 [36]), aumento de cristais de oxalato de cálcio na epiderme (SODA *et al.*, 2000 [51]), aumento ou diminuição na produção de algumas enzimas (PASQUALINI *et al.*, 2003 [42]; MAIOLI *et al.*, 2008 [31]), alterações genéticas (GUIMARÃES *et al.*, 2000 [19]; KLUMPP *et al.*, 2006 [25]), redução na dominância apical (POMPÉIA, 1997 [45]), alterações quantitativas e qualitativas de metabólitos, aumento na concentração de hormônios vegetais relacionados ao estresse (DIJAK; ORMROD, 1982 [11]), aumento ou diminuição da respiração e distúrbios na fotossíntese (HEATH, 1994 [21]; PÄÄKKÖNEN; GÜNTHARDT-GOERG; HOLOPAINEN, 1998 [39]; KOLB; MATYSSEK, 2001 [26]; GEROSA *et al.*, 2003 [17]; SILVA *et al.*, 2005 [50]) e alterações na abertura e no fechamento estomático (SCHAUB *et al.*, 2005 [49]).

De todos os gases tóxicos, o SO₂ causa a maior injúria para a vida da planta. Esse gás pode entrar na folha por meio da abertura estomática ou da cutícula epidérmica, resultando na inibição dos processos secundários da fotossíntese, os quais também induzem o fechamento estomático. Os óxidos de nitrogênio promovem a acidificação das folhas, e o ozônio dissocia-se rapidamente nos tecidos vegetais e forma o oxigênio molecular e os peróxidos. Esses peróxidos afetam o plasmalema e, posteriormente, todas as biomembranas. Logo, a necrose aparece e espalha-se além do local pelo qual o gás entrou na folha (PINZON-TORRES, 2008 [44]).

A maioria dos dados a respeito da sensibilidade específica de várias plantas aos foto-oxidantes é baseada em tratamentos experimentais com gases individuais. Na natureza, entretanto, os poluentes atmosféricos sempre ocorrem em combinação e variam a pressão parcial de cada um dos gases componentes sobre o vegetal atingido. Assim, partes mais expostas dos vegetais são fortemente influenciadas pela qualidade do ar atmosférico, sendo a folha um dos órgãos mais plásticos que evidenciam os impactos provocados por gases poluentes (LARCHER, 2006 [28]).

Vários estudos têm demonstrado os efeitos negativos dos poluentes sobre os vegetais por meio do método de biomonitoramento passivo, no qual se utilizam populações de organismos residentes nas áreas que são fonte da poluição (HAWKSWORTH, 1992 [20]; BOUBEL *et al.*, 1994 [7]). Em cidades brasileiras podem ser citados os trabalhos realizados por Bündchen (2001) [9] com *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze (Araucariaceae), por Mazzoni-Viveiros e Trufem (2004) [34] com *Tibouchina pulchra* Cogn. (Melastomataceae) e por Alves, Tresmondi e Longui (2008) [2] com *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae).

Nessa perspectiva, sugere-se que a emissão de gases poluentes e aerossóis provenientes das atividades industriais no ar atmosférico do município de Joinville é precursora potencial de mudanças estruturais na vegetação que ocorre nas imediações das fontes emissoras de poluentes. Assim, o presente estudo objetivou diagnosticar alterações morfológicas e anatômicas em folhas de *Tibouchina granulosa* (Desr.) Cogn. (Melastomataceae) por intermédio do monitoramento passivo.

MATERIAL E MÉTODOS

ÁREA DE ESTUDO

Localizada na Região Sul do país e considerada o maior polo industrial do estado de Santa Catarina, Joinville abriga fábricas dos setores metal-mecânico, têxtil e de plásticos. Situa-se nas coordenadas 26°18'05" S e 48°50'38" W, totalizando uma área de 1.135,05 km² (IPPUJ, 2006 [23]). O clima da região é do tipo úmido com pouco ou nenhum *déficit* de água (GAPLAN, 1986 [16]). Tem como cobertura vegetal a floresta ombrófila densa (FATMA, 2002 [15]).

Para o monitoramento da espécie selecionada, foram escolhidas três áreas amostrais assim distribuídas: 1) adjacência de uma indústria de fundição e de importantes vias de trânsito da zona norte; 2) unidade de conservação próxima à região central; 3) área rural, tida como controle (figura 1).

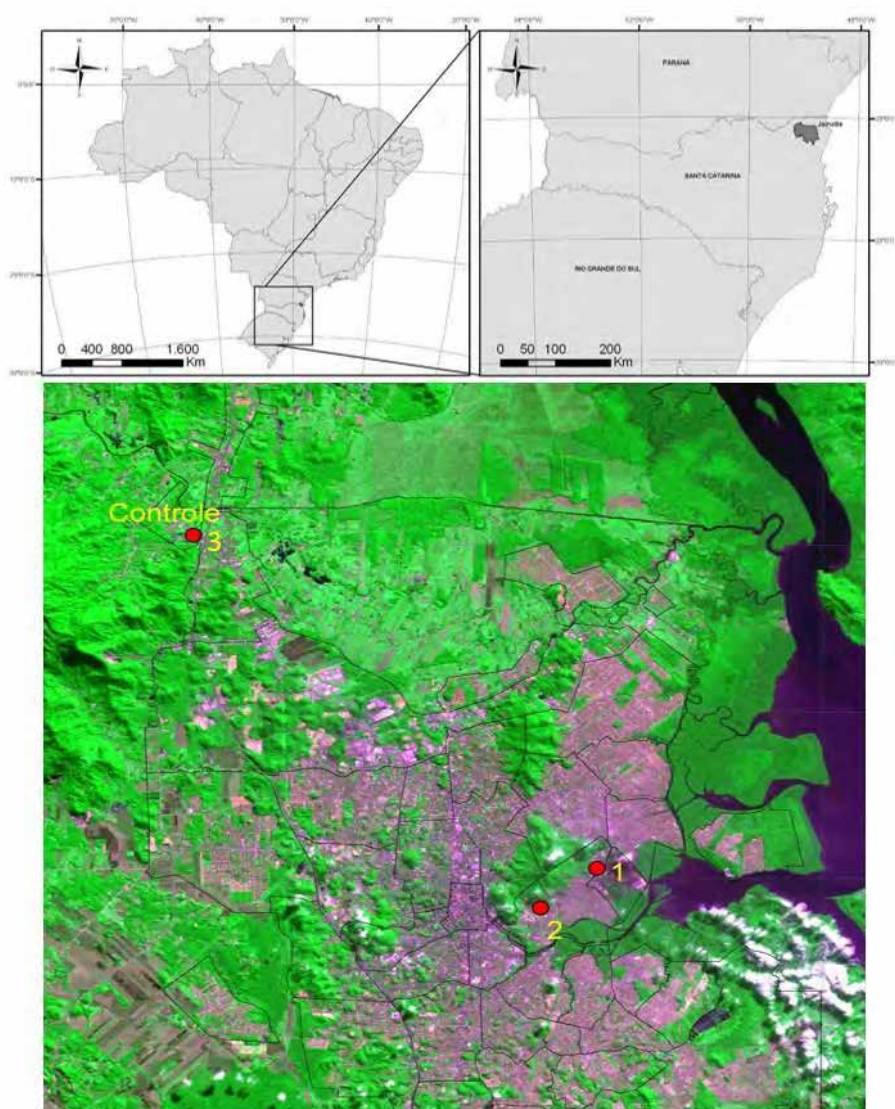


Figura 1 – Localização das áreas amostrais para o monitoramento de *Tibouchina granulosa* (Melastomataceae), Joinville, Santa Catarina, Brasil. Legenda: 1) Área adjacente à fonte emissora de poluentes atmosféricos; 2) área próxima ao centro da cidade; 3) área rural (controle).

ESPÉCIE BIOMONITORA E COLETA DE DADOS

A espécie em estudo conhecida como quaresmeira, *Tibouchina granulosa* (Desr.) Cogn. (Melastomataceae), é bastante cultivada como ornamento e destaca-se na Região Sul do país pelo belo colorido, formando manchas róseas e roxas nos capoeirões das encostas da mata atlântica (BACKES;

IRGANG, 2004 [4]). É uma árvore heliófita e perenifólia de pequeno porte, de até 12 metros de altura, com fustes curtos, de até 40 centímetros de diâmetro, e de casca rugosa, fissurada, soltando-se em pequenas placas irregulares. Floresce geralmente duas vezes ao ano, de junho a agosto e de dezembro a março (LORENZI, 1992 [30]).

Em cada ambiente foram selecionados 10 indivíduos de *T. granulosa*, totalizando um grupo amostral de 30 plantas. Realizaram-se as coletas na mesma fase fenológica da planta e na mesma estação do ano, a fim de padronizar a coleta. O material de referência para confirmação da espécie foi coletado e exsicatado conforme metodologia proposta pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2012 [22]) e encontra-se tombado no Herbário JOI da Universidade da Região de Joinville (Univille). De cada indivíduo selecionado, foram coletadas 15 folhas de sol no terceiro e no quarto nó, para mensuração de peso fresco (g), peso seco (g), conteúdo de água (g.cm^{-2}) e área específica foliar ($\text{cm}^2.\text{g}^{-1}$) (WITKOWSKI; LAMONT, 1991 [53]), e mais 15 folhas fixadas em FAA (formaldeído 37-40%, ácido acético glacial e álcool etílico 50% 1:1:18v/v), posteriormente armazenadas em álcool etílico 70%, para estudo anatômico (JOHANSEN, 1940 [24]).

As análises anatômicas foram feitas com base nas observações em microscópio óptico Olympus CX 31 de seções transversais e paradérmicas do terço médio da lâmina foliar, utilizando preparações histológicas permanentes. As preparações permanentes tiveram os cortes histológicos clarificados, corados com azul de astra + safranina (9:1), desidratados em série etílica crescente e montados em resina sintética do tipo verniz vitral (KRAUS; ARDUIN, 1997 [27]; PAIVA et al., 2006 [40]). Mediram-se estruturas e tecidos foliares com auxílio do software de mensuração de imagens Motic Images, sendo consideradas as espessuras do limbo (μm), do mesófilo (μm), do parênquima paliçádico (μm) e do parênquima lacunoso (μm).

ANÁLISE DOS DADOS

Seguindo o teste de normalidade dos resíduos, os valores médios das características morfoanatômicas quantitativas foram submetidos à análise de variância (Anova). Compararam-se as médias por meio do teste de Tukey, com nível de significância de 5%, em software Statistica 8.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As médias dos parâmetros morfológicos de pesos fresco e seco e área foliar mostraram-se crescentes ao longo das áreas monitoradas, sendo os maiores valores encontrados na população controle de *T. granulosa* (tabela 1). Situação inversa foi observada para a área específica foliar, a qual apresentou maior valor médio nas imediações da fonte emissora de poluentes, decrescendo em direção à área controle (tabela 1).

Tabela 1 – Valores médios e desvios padrão dos parâmetros morfoanatômicos avaliados em *Tibouchina granulosa* nas três áreas de estudo em Joinville. Legenda: Áreas – 1) adjacente à fonte emissora de poluentes atmosféricos; 2) próxima ao centro da cidade; 3) rural (controle). Letras diferentes indicam diferença estatística significativa para valores na mesma linha ($F_{2, 147} = 49.5$, $p < 0.05$).

Parâmetros	Área 1	Área 2	Área 3
Peso fresco (g)	1,47 (0,53) ^c	1,54 (0,69) ^b	2,23 (0,63) ^a
Peso seco (g)	0,51 (0,20) ^c	0,57 (0,25) ^b	0,83 (0,26) ^a
Área foliar (cm^2)	36,94 (12,30) ^c	37,59 (15,02) ^b	50,34 (12,47) ^a
Área específica foliar ($\text{cm}^2.\text{g}^{-1}$)	74,63 (15,73) ^a	68,15 (12,44) ^b	62,48 (12,02) ^c
Conteúdo de água (g.cm^{-2})	0,013 (0,002) ^b	0,013 (0,002) ^b	0,014 (0,004) ^a
Densidade foliar ($\text{mm}^3.\text{g}^{-1}$)	0,88 (0,25) ^a	0,80 (0,20) ^b	0,79 (0,23) ^c
Parênquima paliçádico (μm)	69,83 (16,96) ^c	80,74 (18,38) ^b	89,76 (20,66) ^a
Parênquima lacunoso (μm)	57,40 (13,02) ^c	60,40 (10,79) ^b	63,83 (14,91) ^a
Espessura do mesófilo (μm)	165,87 (30,84) ^c	181,59 (27,07) ^b	201,84 (40,46) ^a
Espessura total do limbo (μm)	181,08 (31,16) ^c	195,05 (27,37) ^b	214,76 (41,46) ^a

As diferenças observadas no conteúdo de água indicam que há maior perda de água nos tecidos foliares das plantas da área poluída em relação àquelas situadas na área controle. Plantas da área controle têm maior conteúdo de água em comparação às expostas à poluição (tabela 1).

Larcher (2006) [28] afirma que o SO_2 é um importante gás responsável por esse fenômeno, sendo capaz de penetrar no mesofilo por meio dos estômatos e afetar o seu funcionamento. Na medida em que na maioria das plantas os estômatos se abrem apenas durante o dia, plantas expostas ao SO_2 tendem a abrir seus estômatos mesmo à noite, acentuando a perda de água (LEVITT, 1972 [29]; MUDD; KOZLOWSKI, 1975 [37]). Dessa forma, tal poluente faz com que a planta passe a transpirar excessivamente, e a economia de água da planta entra em colapso, podendo desidratar o indivíduo até sua falência (BERNATZKY, 1978 [6]).

Os dados morfológicos obtidos para *T. granulosa* sugerem que as populações localizadas nas áreas com maior concentração de gases contaminantes, por serem mais suscetíveis a essa nociva condição ambiental, tendem a fazer maior investimento na manutenção do corpo vegetal, uma vez que os tecidos fotossintetizantes são os primeiros a sofrer injúria pelos poluentes. Os maiores valores de densidade foliar observados nessas populações em associação com a menor espessura do mesofilo apontam possível redução na produção fotossintética. Plantas da área controle apresentam menor densidade foliar e maior espessura do mesofilo, resultante do maior incremento dos parênquimas paliçádico e lacunoso. Isso mostra maior investimento na produção fotossintética e, por conseguinte, crescimento do corpo vegetal.

Conforme proposto por Niinemets (2001) [38], maiores valores de densidade foliar geralmente se relacionam com o investimento em tecido mecânico ou a compactação dos tecidos fotossintetizantes, em função das condições ambientais, pois folhas mais densas implicam maior custo de construção foliar, o que também diminui as taxas fotossintéticas.

Malhotra e Blauel (1977) [32], examinando acículas de *Pinus* sp. (Pinaceae) submetidas a SO_2 , verificaram o aparecimento de rupturas nas membranas dos cloroplastos, sendo essas rupturas mais severas em acículas velhas do que em folhas jovens. Assim, acredita-se que o menor investimento em produção fotossintética sugerido para as plantas de *T. granulosa* situadas nas áreas mais poluídas possa também estar ligado a um processo similar de degeneração de tecidos fotossintetizantes e subsequente fotoinibição. Resultados equivalentes foram encontrados em plantas de *Tibouchina pulchra* Cogn. (Melastomataceae) e *Tradescantia pallida* (Rose) D. R. Hunt (Commelinaceae) expostas a níveis elevados de poluição do ar, as quais tiveram a capacidade fotossintética comprometida, afetando significativamente o seu crescimento (SANTOS, 2013 [48]).

Padrão similar aos atributos morfológicos foi visto para os caracteres anatômicos, com aumento gradativo da espessura dos tecidos fotossintetizantes e do limbo em direção à área controle. Folhas mais delgadas ocorreram nos indivíduos da área potencialmente poluída, enquanto se encontraram folhas mais espessas nas plantas da área controle. Respectivas diminuições e aumentos na espessura do mesofilo foram decorrentes do menor ou maior desenvolvimento dos tecidos fotossintetizantes (tabela 1).

Na literatura as informações a respeito do efeito dos poluentes sobre a espessura foliar são contraditórias, havendo estudos que mostram relação positiva entre aumento de poluentes e espessura (GEROSA *et al.*, 2003 [17]; PEDROSO; ALVES, 2008 [43]) e outros que exibem relação inversa (ALVES *et al.*, 2001 [1]; REIG-ARMIÑANA *et al.*, 2004 [47]).

Os resultados obtidos nesta pesquisa para *T. granulosa* corroboram a relação observada de que o aumento da concentração de poluentes provoca diminuição na espessura do mesofilo e do limbo (EVANS; ADAMSKI II; RENFRO, 1996 [13]; ALVES *et al.*, 2001 [1]; REIG-ARMIÑANA *et al.*, 2004 [47]). Diminuição da espessura da folha de espécies sensíveis, quando comparadas às tolerantes à poluição atmosférica, pode decorrer apenas da diminuição da espessura do parênquima paliçádico, enquanto o parênquima lacunoso não sofre alteração (BENNETT *et al.*, 1992 [5]). Embora seja possível que a redução dos tecidos fotossintetizantes acarrete declínio na produção fotossintética, essa redução dificulta o deslocamento de gases poluentes nos tecidos do mesofilo pela redução dos espaços intercelulares, como achado em híbridos de *Tradescantia* (ALVES *et al.*, 2001 [1]). Células do mesofilo também são alvo da ação nociva do ozônio, o qual provoca ruptura das células parenquimáticas (FINK, 1999 [14]). Alterações dessa ordem foram visualizadas em estudos com o gênero *Nicotiana*, quando a planta foi submetida ao ozônio (POVILATIS, 1962 [46]; GLATER; SOLBERG; SCOTT, 1962 [18]). Logo, o efeito deletério do ozônio sobre as plantas parece estar relacionado à inibição da fotossíntese (PALLARDY, 2008 [41]).

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos para *T. granulosa* demonstram que as variações estruturais observadas entre as plantas localizadas nas áreas poluídas e as da área controle decorrem das injúrias provocadas pela presença de gases poluentes na atmosfera. Os caracteres morfoanatômicos analisados sugerem processos de fotoinibição nas plantas sujeitas à poluição. As plantas localizadas fora da área urbana de Joinville apresentaram diferenças significativas para os atributos estudados, de tal forma que representam maior integridade da planta quando não exposta à poluição. Cabe enfatizar que, apesar de a folha ser o órgão vegetal mais suscetível às variáveis ambientais, se torna necessário aumentar as pesquisas morfoanatômicas que correlacionem outras estruturas como caules e raízes, ou até mesmo fases fenológicas, ampliando as possibilidades de interpretação sobre os efeitos danosos causados por poluentes atmosféricos.

REFERÊNCIAS

1. Alves ES, Giusti PM, Domingos M, Saldiva PHN, Guimarães ET, Lobo DJA. Estudo anatômico foliar do clone híbrido 4430 de *Tradescantia*: alterações decorrentes da poluição aérea urbana. *Revista Brasileira de Botânica*. 2001;24:567-76.
2. Alves ES, Tresmondi F, Longui EL. Análise estrutural de folhas de *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) coletadas em ambientes rural e urbano, SP, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*. 2008;22(1):241-8.
3. Andrade Júnior SJ, Santos Júnior JCS, Oliveira JL, Cerqueira EMM, Meireles JRC. Micronúcleos em tétrades de *Tradescantia pallida* (Rose) Hunt. cv. *purpurea Boom*: alterações genéticas decorrentes de poluição aérea urbana. *Acta Scientiarum*. 2008;30(3):295-301.
4. Backes P, Irgang B. Mata atlântica: as árvores e a paisagem. Porto Alegre: Paisagem do Sul; 2004. 393 p.
5. Bennett JP, Rassat P, Berrang P, Karnosky DF. Relationships between leaf anatomy and ozone sensitivity of *Fraxinus pennsylvanica* Marsh. and *Prunus serotina* Ehrh. *Environmental and Experimental Botany*. 1992;32:33-41.
6. Bernatzky A. Tree ecology and preservation. New York: Elsevier Scientific; 1978. 357 p.
7. Boubel RW, Fox DL, Turner DB, Stern AC. Fundamentals of air pollution. San Diego: Academic Press; 1994. 574 p.
8. Bujokas WM. O impacto da poeira de cimento em *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) [dissertação]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná; 2001.
9. Bündchen M. Respostas morfo-anatômicas e fisiológicas em folhas de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze. (Araucariaceae) sujeitas à poluição urbana [dissertação]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná; 2001.
10. Dias BB, Leite ML, Farago PV, Oliveira AV, Beruski GC. Ação do enxofre em chuva ácida simulada sobre parâmetros morfofisiológicos de *Phaseolus vulgaris* L. (Fabaceae). *Acta Scientiarum*. 2010;32(3):433-9.
11. Dijak M, Ormrod DP. Some physiological and anatomical characteristics associated with differential ozone sensitivity among pea cultivars. *Environmental and Experimental Botany*. 1982;22:395-402.
12. Eleftheriou EP. A comparative study of the leaf anatomy of olive trees growing in the city and country. *Environment and Experimental Botany*. 1987;27(1):105-17.
13. Evans LS, Adamski II JH, Renfro JR. Relationships between cellular injury, visible injury of leaves, and ozone exposure levels for several dicotyledonous plant species at Great Smoky Mountains National Park. *Environmental and Experimental Botany*. 1996;36:229-37.
14. Fink S. Pathological and regenerative plant anatomy. Stuttgart: Gebrüder Borntraeger Berlin; 1999.

15. Fundação do Meio Ambiente – Fatma. Atlas ambiental da região de Joinville: complexo hídrico da Baía da Babitonga. 2ª ed. Florianópolis: Fatma/GTZ; 2002. 152 p.
16. Gabinete de Planejamento e Coordenação Geral – Gaplan. Atlas de Santa Catarina. 1986. 173 p.
17. Gerosa G, Marzuoli R, Bussotti F, Pancrazi M, Ballarin-Denti A. Ozone sensitivity of *Fagus sylvatica* and *Fraxinus excelsior* young trees in relation to leaf structure and foliar ozone uptake. *Environmental Pollution* 125. 2003;91-8.
18. Glater RB, Solberg RA, Scott FM. A developmental study of the leaves on *Nicotianaglutinosa* as related to their smog-sensitivity. *American Journal of Botany*. 1962;49:954-70.
19. Guimarães ET, Domingos M, Alves ES, Caldini N, Lobo DJA, Lichtenfels AJFC et al. Detection of the genotoxic of air pollutants in around the city of São Paulo (Brazil) with the *Tradescantia* micronucleus (Trad-MCN) assay. *Environmental and Experimental Botany*. 2000;44:1-8.
20. Hawksworth DL. The long-terms effects of air pollutants on lichen communities in Europe and North America. Cambridge; 1992.
21. Heath RL. Possible mechanisms for the inhibition of photosynthesis by ozone. *Photosynthesis Research*. 1994;39:439-51.
22. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. Manual Técnico da Vegetação Brasileira. 2ª ed. Rio de Janeiro: IBGE; 2012. 274 p.
23. Instituto de Pesquisa e Planejamento para o Desenvolvimento Sustentável de Joinville – IPPUJ. Joinville: Cidade em dados. Joinville: Ippuj; 2006 [acesso em 2010 Mar 10]. Disponível em: <<http://www.ippuj.sc.gov.br/index>>.
24. Johansen DA. Plant microtechnique. New York: McGraw-Hill; 1940. 523 p.
25. Klumpp A, Ansel W, Klumpp G, Calatayud V, Carrec JP, He S et al. *Tradescantia* micronucleus test indicates genotoxic potential of traffic emissions in European cities. *Environmental Pollution*. 2006;139:515-22.
26. Kolb TE, Matyssek R. Limitations and perspective about scaling ozone impacts in trees. *Environmental Pollution*. 2001;115:373-93.
27. Kraus JE, Arduin M. Manual básico de métodos em morfologia vegetal. Seropédica: Edur; 1997. 198 p.
28. Larcher W. Ecofisiologia vegetal. 3ª ed. São Carlos: Rima; 2006. 531 p.
29. Levitt J. Responses of plants to environmental stresses. New York: Academic Press; 1972. 698 p.
30. Lorenzi H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. São Paulo: Plantarum; 1992. 384 p.
31. Maioli OLG, Santos JM, Reis Junior NC, Cassini STA. Foliar analyses of biochemical parameters of *Licania tomentosa* (Benth.) and *Bauhinia forficata* (Link.) species for air quality assessment. *Química Nova*. 2008;31(8):1925-32.
32. Malhotra SS, Blauel RA. Effects of sulphur dioxide on the forest ecosystem. *Oil sands*. 1977;1:714-9.
33. Masuch G, Franz JT, Kicinski HG, Kettrup A. Histological and biochemical differences of slightly and severely injured spruce needles of two stands in Northrhine Westphalia. *Environmental and Experimental Botany*. 1992;32:163-82.
34. Mazzoni-Viveiros SC, Trufem SFB. Efeitos da poluição aérea e edáfica no sistema radicular de *Tibouchina pulchra* Cogn. (Melastomataceae) em área de mata atlântica: associações micorrízicas e morfologia. *Revista Brasileira de Botânica*. 2004;27(2):337-48.
35. Miguel AH. Poluição atmosférica urbana no Brasil: uma visão geral. *Química Nova*. 1992;15:118-24.

36. Moura BB, Souza SR, Alves ES. Structural responses of *Ipomoea nil* (L.) Roth Scarlet O'Hara (Convolvulaceae) exposed to ozone. *Acta Botanica Brasilica*. 2011;25:122-9.
37. Mudd JB, Kozlowski TT. Responses of plants to air pollution. New York: Academic Press; 1975. 382 p.
38. Niinemets Ü. Climatic controls of leaf dry mass per area, density, and thickness in trees and shrubs at the global scale. *Ecology*. 2001;82:453-69.
39. Pääkkönen E, Günthardt-Goerg MS, Holopainen T. Responses of leaf processes in a sensitivity birch (*Betula pendula* Roth) clone to ozone combined with drought. *Annals of Botany*. 1998;82:49-59.
40. Paiva JGA, Fank-de-Carvalho SM, Magalhães MP, Graciano-Ribeiro D. Verniz vitral incolor 500: uma alternativa de meio de montagem economicamente viável. *Acta Botanica Brasilica*. 2006;20:257-64.
41. Pallardy SG. Physiology of wood plants. 3ª ed. New York: Academic Press; 2008. 411 p.
42. Pasqualini S, Piccioni C, Reale L, Ederli L, Torre GD, Ferranti F. Ozone-induced cell death in tobacco cultivar Bel W3 plants. The role of programmed cell death in lesion formation. *Plant Physiology*. 2003;133:1122-34.
43. Pedroso ANV, Alves ES. Anatomia foliar comparativa das cultivares de *Nicotiana tabacum* L. (Solanaceae) sensível e tolerante ao ozônio. *Acta Botanica Brasilica*. 2008;22(1):21-8.
44. Pinzon-Torres JA. Mecanismo de defesa e recuperação da fotossíntese em *Centrolobium tomentosum* sob condições de estresse induzido por SO₂ [tese]. Campinas: Universidade de Campinas; 2008.
45. Pompéia SL. Sucessão secundária da mata atlântica em áreas afetadas pela poluição atmosférica de Cubatão, SP [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 1997.
46. Povilatis B. A histological study of the effects of weather fleck on leaf tissues of flue-cured tobacco. *Canadian Journal of Botany*. 1962;40:327-30.
47. Reig-Armiñana J, Calatayud V, Cerveró J, Garcia-Breijo FJ, Ibars A, Sanz MJ. Effects of ozone on the foliar histology of the mastic plant (*Pistacia lentiscus* L.). *Environmental Pollution*. 2004;132:321-31.
48. Santos AP. Biomonitoramento vegetal da qualidade do ar em Ribeirão Preto (SP). *Revista Baiana de Saúde Pública*. 2013;37(1):262-6.
49. Schaub M, Skelly JM, Zhang JW, Ferdinand JA, Savage JE, Stevenson RE et al. Physiological and foliar symptoms response in the crowns of *Prunus serotina*, *Fraxinus americana* and *Acer rubrum* canopy trees to ambient under forest conditions. *Environmental Pollution*. 2005;133:553-67.
50. Silva LC, Oliva MA, Azevedo AA, Araújo JM, Aguiar RM. Micromorphological and anatomical alterations caused by simulated acid rain in resting plants: *Eugenia uniflora* and *Clusia hilariana*. *Water, Air and Soil Pollution*. 2005;158(1):129-43.
51. Soda C, Bussotti F, Grossoni P, Barnes J, Mori B, Tani C. Impacts of urban levels of ozone on *Pinus halepensis* foliage. *Environmental and Experimental Botany*. 2000;44:69-82.
52. Viskari EL, Holopainen T, Kärenlampi L. Responses of spruce seedlings (*Picea abies*) to exhaust gas under laboratory conditions-II ultrastructural changes and stomatal behaviour. *Environmental Pollution*. 2000;107:99-107.
53. Witkowski ET, Lamont BB. Leaf specific mass confounds leaf density and thickness. *Oecologia*. 1991;88:486-93.