

Ação do enxofre em chuva ácida simulada sobre parâmetros morfofisiológicos de *Phaseolus vulgaris* L. (Fabaceae)

Bruna Borba Dias^{1*}, Maysa de Lima Leite², Paulo Vitor Farago³, André Vicente de Oliveira² e Gustavo Castilho Beruski²

¹Laboratório de Oceanografia Costeira, Universidade Federal de Santa Catarina, Servidão dos Coroaos, fundos, 88061-600, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. ²Departamento de Biologia Geral, Setor de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, Paraná, Brasil. ³Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, Paraná, Brasil. *Autor para correspondência. E-mail: diasbb@hotmail.com

RESUMO. O presente trabalho teve o objetivo de analisar os efeitos do enxofre e da chuva ácida simulada sobre a estrutura foliar do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L), nos aspectos morfoanatômicos, teores de clorofila *a*, *b*, total e feofitina. As plantas-controle sofreram simulações de chuva com pH 6,0 e as plantas-teste sofreram simulação de chuva ácida com pH 3,0. As concentrações de clorofila *a*, *b* e total diminuíram no estágio de floração (R₆). Já, no estágio R₇, onde surgem as primeiras vagens, os teores aumentaram, indicando possível resistência e/ou adaptação dos espécimes às simulações ácidas. O tratamento ácido afetou a concentração de clorofila que foi degradada por processos oxidativos sem a sua conversão em feofitina. Também se observou diminuição na frequência de tricomas tectores e glandulares, assim como de estômatos. As injúrias visualizadas foram classificadas como de caráter leve, provavelmente pela existência de anexos epidérmicos para proteção foliar e peciolar.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris*, chuva ácida, enxofre, clorofila, anexos epidérmicos.

ABSTRACT. Sulfur effect by simulated acid rain on morphophysiological parameters of the bean plant. The goal of this work was to evaluate the effects of sulfur and simulated acid rain on the leaf of *Phaseolus vulgaris*. Acid rain (pH 3.0) and an aqueous solution (pH 6.0) were performed on test and control plants, respectively. A decrease in chlorophyll *a*, chlorophyll *b* and total chlorophyll concentrations was observed in the flowering stage (R₆). However, increased rates were determined in the maturation stage (R₇), which can suggest a resistance and/or adjustment of the plants to the acid simulation conditions. The acid treatment achieved chlorophyll degradation by oxidative processes without conversion to pheophytin. A reduction was also seen in the number of glandular and non-glandular trichomes and stomata on the test plants. Moreover, only small injuries were verified on the blade and petiolar areas of the tested individuals of *P. vulgaris*, probably due to the presence of the reported epidermal structures.

Key words: *Phaseolus vulgaris*, acid rain, sulfur, chlorophyll, epidermal annexes.

Introdução

A composição química da água da chuva é uma combinação da composição química das gotículas que formam as nuvens e das substâncias que se incorporam às gotas de chuva durante a precipitação. Sendo assim, a água da chuva, de certa forma, retrata as características da massa de ar, no que diz respeito ao conteúdo de partículas e gases solúveis em água, pela qual atravessam as gotas de chuva durante a precipitação. Evidência disso é a variação da composição química da água da chuva em relação ao tempo, que se observa no decorrer de um evento de precipitação. Outra evidência é a reação inversa que há entre o total de íons dissolvidos e a quantidade de chuva precipitada, sugerindo que a maior parte dos

íons presentes na água da chuva se incorpora a ela durante a precipitação, processo conhecido como remoção abaixo da nuvem (*below-cloud removal*) (SOUZA et al., 2006).

Alguns íons estão presentes normalmente nas chuvas, pelos processos biogeoquímicos normais. Naturalmente existe na atmosfera compostos como o dióxido de carbono (CO₂), o nitrogênio e o enxofre, que dão à chuva uma característica levemente ácida (MIGLIAVACCA et al., 2005), com um pH natural em torno de 5,6. Entretanto, estudos demonstram que não se deve generalizar este valor, pois já foram encontradas em áreas remotas, chuvas com valores ácidos, indicando que naturalmente pode haver fatores que diminuem o pH das chuvas (MARQUES et al., 2006).

O aumento da atividade urbano-industrial tem levado a crescente emissão de compostos químicos na atmosfera (ALVES et al., 1990), pelo aumento no consumo de combustíveis fósseis, influenciando diretamente a característica da precipitação (TRESMONDI et al., 2005). No Sul do Brasil, a queima destes combustíveis, principalmente carvão, está entre as fontes industriais que têm provocado alterações da qualidade ambiental em determinadas áreas nesta região (MIGLIAVACCA et al., 2005). Essas emissões causam acidificação ainda maior das chuvas, que está associada principalmente à presença de óxidos de nitrogênio (NO_x) e dióxido de enxofre (SO_2) provindos dos processos de combustão. Na presença da radiação solar, as reações destes gases com o vapor de água presente na atmosfera ocasionam a formação de ácido nítrico e sulfúrico e como consequência diminui o pH da água de acordo com os níveis de poluição (MIRLEAN et al., 2000).

Áreas menos industrializadas são alvo da expansão industrial, como acontece na região da cidade de Ponta Grossa, Estado do Paraná, onde as novas indústrias atuam como fontes poluidoras na região. Além de contribuir com as mudanças climáticas com a emissão excessiva de gases como dióxido de carbono (CO_2), metano (CH_4), ozônio (O_3) e óxido nitroso (N_2O), as indústrias favorecem a formação de chuvas ácidas na região (BRENA, 2002), prejudicando assim a composição vegetal dos Parques e Unidades de Conservação da região.

Embora as florestas pareçam ser particularmente afetadas pela deposição da chuva ácida (sofrendo alterações morfológicas, fisiológicas, anatômicas, bioquímicas, entre outras, ocasionadas por poluentes liberados na atmosfera) (CÓNSUL et al., 2004; SILVA et al., 2000), culturas agrícolas também podem sofrer os seus efeitos, como o feijão, a soja, o milho e o trigo.

A chuva ácida pode exercer efeitos prejudiciais à folha, ao caule, às raízes e ao solo, podendo causar a redução da razão clorofila a/clorofila b, a perda de biomassa de troncos e de raízes, prejudicar o transporte de água dentro da planta, bem como tornar alguns nutrientes indisponíveis no solo, dificultando o desenvolvimento da planta (BRENA, 2002).

A intensidade dos danos depende do estágio de desenvolvimento e das condições fisiológicas da planta, da área foliar e da taxa de absorção de constituintes da chuva por unidade de área. O dano depende ainda da frequência, intensidade e composição da chuva (ALVES et al., 1990).

Este estudo preliminar foi realizado com o objetivo de analisar o efeito da chuva ácida causada por elevados níveis de ácido sulfúrico, sobre

parâmetros morfológicos e sobre o crescimento de plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L. (Fabaceae)) cv. IPR88 Uirapuru. Essa espécie, bem adaptada às condições locais, foi utilizada pelo seu ciclo de vida curto possibilitar investigação mais rápida sobre possíveis efeitos de maior acidez da chuva, possibilitando posteriormente, acompanhamento mais prolongado e criterioso desses efeitos sobre esta cultura em condições de campo e em espécies nativas da região de Ponta Grossa, Estado do Paraná, local possivelmente afetado pela precipitação ácida, pela proximidade a regiões industriais.

Material e métodos

O trabalho foi conduzido em casa-de-vegetação, no Colégio Estadual Agrícola Augusto Ribas, situado no campus da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), Ponta Grossa, Estado do Paraná, instalado em 30/1/07. A temperatura média do ar dentro da casa-de-vegetação durante o período avaliado foi de 26,1°C, oscilando entre a máxima absoluta de 38,0°C e a mínima absoluta de 14,0°C. Foram utilizadas plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* (L.) cv. IPR88 Uirapuru, desenvolvidas pelo Instituto Agrônomo do Paraná - Iapar e indicadas para cultivo em todo o Estado do Paraná. As plantas foram cultivadas em vasos plásticos pretos, com capacidade de aproximadamente 3,5 kg, preenchidos com Latossolo Vermelho distrófico.

Em cada vaso foram colocadas para germinar quatro sementes de feijão previamente selecionadas. Decorridos seis dias após a semeadura, quando as plântulas apresentavam as folhas primárias totalmente expandidas (estádio V₁) (FERNÁNDEZ et al., 1982), realizou-se o desbaste deixando-se duas plantas por vaso. A irrigação do solo dos vasos foi efetuada por meio de um turno de rega de quatro dias e quantificada pelo uso dos valores médios mensais da evapotranspiração potencial (ETP) (mm dia^{-1}) (PEREIRA et al., 2002) e dos valores de coeficiente de cultivo (Kc) (DOOREMBOS; KASSAM, 1979; SOUZA; GOMES, 2008), para a cultura do feijoeiro em Ponta Grossa, Estado do Paraná.

Durante todo o ciclo da cultura, foram feitas observações de fenologia, diariamente, caracterizando-a segundo o método descrito por Fernández et al. (1982), para a cultura do feijão. Nesta escala, o ciclo biológico do feijoeiro é constituído de dez etapas de desenvolvimento, e a designação de cada etapa é baseada em um código que consta de uma letra e um número. A letra significa a fase dentro do ciclo, ou seja, a letra V refere-se à fase vegetativa e a letra R, à fase reprodutiva e os números indicam a posição da etapa

de desenvolvimento da planta dentro da escala, sendo os estádios caracterizados pela germinação (V_0), cotilédones ao nível do solo (V_1), folhas primárias expandidas (V_2), primeira folha trifoliada (V_3), terceira folha trifoliada (V_4), botões florais – pré-floração (R_5), abertura da primeira flor – floração (R_6), início da formação das vagens (R_7), enchimento das vagens (R_8) e maturidade fisiológica (R_9). A caracterização da mudança do estágio fenológico era realizada quando 50% das plantas da população de cada tratamento apresentavam as características referentes ao novo estágio.

Foram utilizados dois tratamentos, sendo o controle (denominado T1) para simulação da chuva com um pH próximo à chuva comum (pH 6,0) e o tratamento com chuva ácida simulada com enxofre (pH 3,0) (denominado T2). A solução de chuva ácida foi preparada por meio da mistura de ácido sulfúrico $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ e água destilada para reduzir o pH a um valor igual a 3,0, conforme procedimento descrito por Sant'Anna-Santos et al. (2006). Aos 14 dias após a semeadura, quando as plantas encontravam-se no estágio V_3 , deu-se início às simulações de chuvas dos dois tratamentos utilizando-se pulverizadores manuais. Estas simulações foram realizadas por um período de dez dias consecutivos, com duração de 20 min., sempre no período da manhã, próximo às 9h. As amostragens foram realizadas por meio de três coletas nos estádios V_3 , R_6 e R_7 , respectivamente, sempre após o décimo dia de pulverização.

Em cada coleta foram descartados cinco vasos de cada tratamento, num total de dez plantas por tratamento, por coleta, onde foram realizadas análises das concentrações de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total e feofitinas pelo método de extração segundo Hiscox e Israelstam (1979). Foram recortados pedaços de 2 cm^2 da parte central da folha e posteriormente, encubados em 5 mL de dimetilsulfóxido por 18h a 65°C para extração completa das clorofilas e feofitinas. Verificou-se a absorvância da solução resultante nos comprimentos de onda 648, 664, 665 e 750 nm, com os cálculos das concentrações de acordo com Apha (1998) e Barnes et al. (1992).

Para análise estatística de todas as variáveis, após a verificação da normalidade dos dados empregando-se o teste de Shapiro-Wilk, utilizou-se o teste *t* de *student* para comparação dos tratamentos dentro de cada coleta. Para tal procedimento, utilizaram-se os software Bioestat[®] 2.0 e Microsoft Excel[®] para melhor interpretação e visualização dos resultados.

As análises de alterações anatômicas também foram realizadas nesses três estádios fenológicos (V_3 , R_6 e R_7). As folhas adultas foram fixadas no próprio

local de coleta, utilizando-se FAA 70 (JOHANSEN, 1940), sendo posteriormente armazenadas em álcool etílico a 70% (V/V). Lâminas semipermanentes foram preparadas à mão livre, a partir de secções transversais da região mediana do limbo foliar e do pecíolo. Também foram obtidas lâminas de secções do limbo foliar em vista de face. O material seccionado foi previamente submetido à coloração com azul de astra e fucsina básica (ROESER, 1962) e azul de toluidina (O'BRIEN et al., 1965). Os registros fotográficos foram realizados em Fotomicroscópio Olympus[®] CX 31. As escalas micrométricas foram fotografadas e ampliadas nas mesmas condições ópticas.

A interpretação das alterações anatômicas a partir dos diferentes tratamentos propostos foi realizada pela análise das modificações qualitativas, evidenciadas particularmente nos anexos epidérmicos.

Resultados e discussão

Clorofila

As clorofilas, por sua estrutura química instável, são facilmente degradadas (STREIT et al., 2005). Por esse efeito, pode ser observado na Figura 1 o primeiro efeito da chuva ácida. A partir da análise dos valores de concentrações de clorofila no estágio R_6 , foi observada maior degradação da clorofila *a* nas plantas submetidas à chuva ácida (T2). Para efeito de comparação, nesse período foi analisado também o teor de clorofila *b*, onde se verificou também o efeito da acidez das chuvas simuladas na diminuição desse pigmento, como ilustra a Figura 1. Esse efeito foi observado também por Alves et al. (1990). Os teores de clorofila total apresentaram a mesma tendência, conforme pode ser verificado na Figura 1. Os teores de clorofila *a* ($p = 0,0686$), clorofila *b* ($p = 0,0836$) e clorofila total ($p = 0,0706$) obtidos não demonstraram valores estatisticamente significativos. Essa diminuição dos teores de clorofila nas plantas pode ter ocorrido pelos ácidos fortes, neste caso o ácido sulfúrico, reduzir sua síntese ou aumentar sua degradação (ALVES et al., 1990).

Na análise do estágio R_7 , foi observado um efeito secundário, em que os teores de clorofila *a*, clorofila *b* e clorofila total mostraram-se ligeiramente superiores e não estatisticamente significativos nas plantas em efeito ácido (T2) em relação às plantas-controle (T1), possivelmente porque a planta pode ter desenvolvido um mecanismo de resistência das folhas às simulações ácidas. Esse efeito também foi relatado por Fan e Wang (2000), estudando o efeito da acidez da chuva nos indivíduos *Melia azedarach* L. e *Koelreuteria bipinnata* Franch.

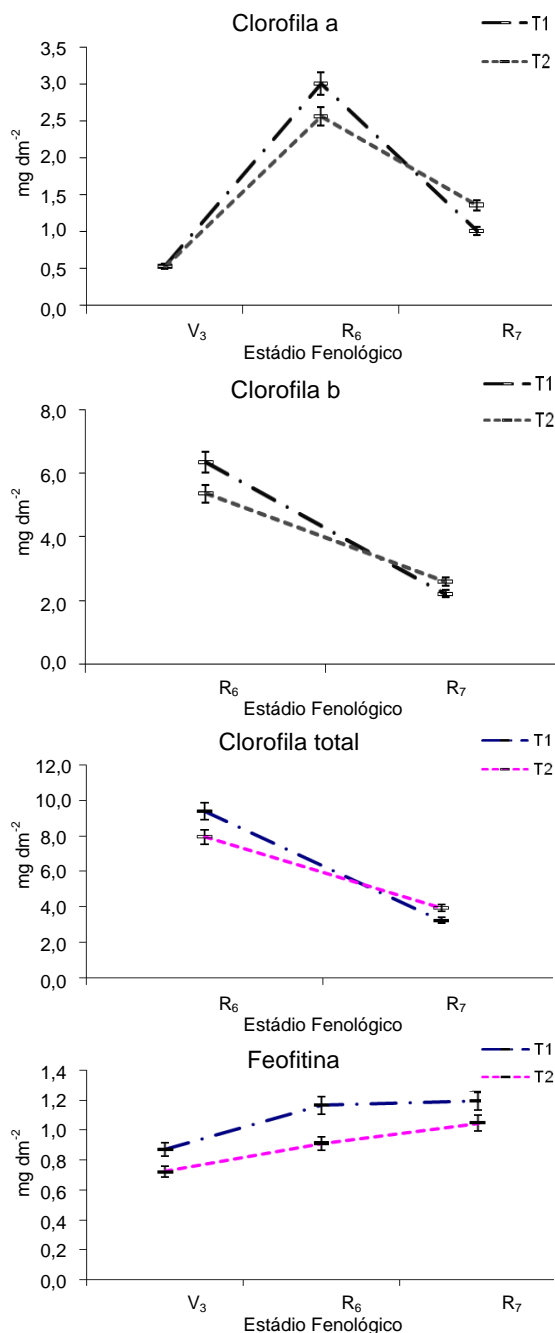


Figura 1. Concentração de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total e feofitina em *P. vulgaris* cv. IPR88 Uirapuru tratado com chuvas normais (T1) e com chuvas ácidas (T2).

Comparando as concentrações de clorofila *a* e clorofila *b*, observou-se maior proporção de clorofila *b* sobre a clorofila *a*, possivelmente, pelo nível de sombreamento da casa-de-vegetação. Lima Júnior et al. (2005) e Neves et al. (2005), estudando espécies arbóreas, descreveram que maior proporção de clorofila *b* pode ser vantajosa sob o sombreamento, pois este tipo de clorofila permite maior absorção de luz menos intensa. Alves et al. (1990) observaram que a razão clorofila *a/b* foram mantidas essencialmente constantes,

resultado também observado na presente pesquisa, indicando que as clorofilas *a* e *b* foram afetadas igualmente.

A redução no teor de clorofila, normalmente, está associada à modificação da composição, da frequência e da intensidade de chuva. Segundo Szabo et al. (2003), o dióxido de enxofre (SO₂) pode alterar os processos fotossintéticos, reduzindo a concentração de clorofila e convertendo-a em feofitina e Mg²⁺ (SHAN, 1998) (Figura 1). No presente estudo, entretanto, a chuva ácida não causou a conversão das clorofilas em feofitinas, visto que a redução no teor de clorofila não correspondeu a um aumento na produção das correspondentes feofitinas. Esse resultado pode ter sido decorrente da degradação por processos oxidativos, sem a concomitante formação de feofitina (ALVES et al., 1990).

Neste trabalho, no tratamento exposto à chuva ácida simulada com pH 3,0 (T2), as plantas de feijão apresentaram decréscimos não-estatisticamente significativos nos conteúdos de clorofilas em nenhuma das coletas, enquanto os teores de feofitina nos estádios V₃ e R₇ foram estatisticamente significativos ($p = 0,0205$ e $0,0089$), quando comparados ao tratamento-controle (T1). Nesse sentido, os resultados de variação nos teores de clorofila revelaram tendências biologicamente expressivas, permitindo inferir que, com relação à clorofila, esta cultivar é relativamente resistente à acidez das chuvas simuladas, merecendo estudos mais aprofundados, principalmente em condições de campo.

Análises morfoanatômicas

A folha, como órgão mais sujeito à ação de poluentes atmosféricos, pode sofrer vários tipos de injúrias, sendo o grau de agravo foliar correspondente à resistência da planta aos poluentes (SILVA et al., 2000). No estágio V₃ (Figura 2), as plantas expostas à chuva ácida (T2) mostraram os trifólios mais jovens, próximos ao ápice enrugados e encarquilhados. Houve encurtamento dos internódios, e as nervuras das folhas mais velhas apresentaram coloração avermelhada. Estes sintomas podem ter sido resultantes de uma hiperplasia ou de hipertrofismo das células do mesófilo (SANT'ANNA-SANTOS et al., 2006; SILVA et al., 2005), assim como de uma inativação do meristema lateral pela necrose marginal. Nesta simulação ocorreram injúrias foliares relatadas também por Oliva e Figueiredo (2005), analisando o efeito da chuva ácida enriquecida com flúor em gramíneas. Sant'Anna-Santos et al. (2006) verificaram necroses

na face adaxial da folha em *Genipa americana* L. similares às obtidas neste trabalho, causada pela exposição direta à solução ácida, que se concentrou ao longo das nervuras e nas áreas marginais, resultando no aparecimento de lesões nessas áreas. Houve queda prematura de folhas, característica observada também por Szabo et al. (2003), que descreve esse efeito como uma reação compensatória comumente verificada em plantas expostas ao SO₂.



Figura 2. Imagem de *Phaseolus vulgaris* cv. IPR88 Uirapuru no estágio V₃, após dez dias consecutivos de simulação de chuvas normais (T1) à esquerda, e chuvas ácidas (T2) à direita.

Com relação às alterações anatômicas verificadas a partir dos tratamentos com chuva normal (T1) e ácida (T2), não foram observadas modificações na região parenquimática e nas estruturas vasculares do limbo foliar e da região peciolar, discordando de Chaves et al. (2002) e concordando com Silva et al. (2000). Entretanto, foram visualizadas mudanças nas estruturas de revestimento foliar de *P. vulgaris*.

Quanto às células epidérmicas, na região de nervura mediana do limbo foliar, foi observado que essas estruturas apresentaram formato mais globoso no tratamento sem acidez (T1), em relação ao mesmo detalhe anatômico revelado no tratamento ácido (T2), em que as células apresentaram formato mais achatado, características observadas também por Chaves et al. (2002).

Ainda com relação ao limbo foliar, foi observada uma redução da ocorrência do número de tricomas glandulares (Figura 3) em ambas as faces, quando se comparam os tratamentos das chuvas normal (T1) e ácida (T2). Com relação aos tricomas tectores (Figura 3), além da diminuição do número desses anexos epidérmicos, foram verificadas alterações morfológicas, em que os tricomas tornaram-se menores em comprimento e com ápice captado, sem a presença da estrutura em forma de gancho.

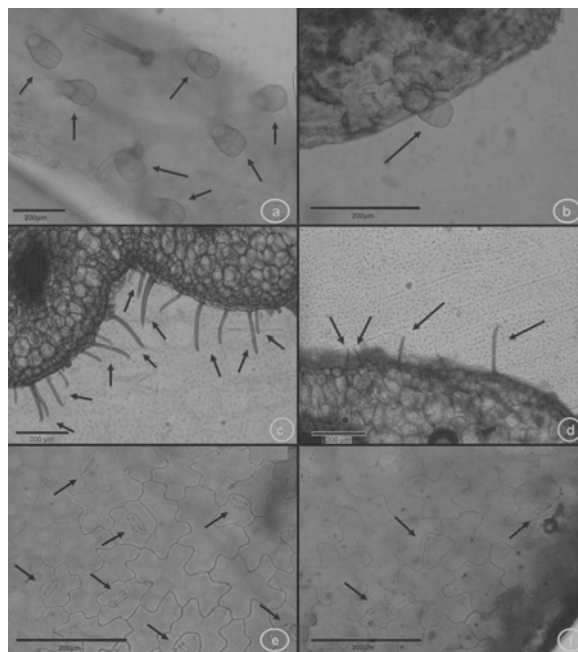


Figura 3. Diferença na ocorrência de tricomas glandulares nas plantas-controlé – T1 (muitos tricomas) (a) e nas plantas que sofreram simulação ácida – T2 (poucos tricomas) (b). Diferença na ocorrência de tricomas tectores nas plantas-controlé – T1 (tricomas longos e afilados) (c) e nas plantas que sofreram simulação ácida – T2 (tricomas curtos e com atenuação no ápice) (d). Maior quantidade de estômatos nas plantas-controlé – T1 (e) e menor quantidade de estômatos nas plantas que sofreram simulação ácida – T2 – (f) de *P. vulgaris* cv. IPR88 Uirapuru.

Assim como Silva et al. (2000), na análise da influência da acidez, não ocorreram alterações no mesófilo, mantendo sua integridade, inclusive nos sistemas vasculares. Já, observando a frequência de estômatos, houve tendência à diminuição do número desses nas plantas que sofreram as simulações ácidas (T2) (Figura 3). Evans et al. (1977) concluíram que o SO₄⁻² afeta o tecido foliar próximo aos tricomas e estômatos, diminuindo sua frequência, o que poderia acarretar em alterações nos processos de fotossíntese (SILVA et al., 2005), transpiração e respiração da planta. Resultados opostos foram encontrados por Alves et al. (2008), verificando que indivíduos de *Eugenia uniflora* L. submetidos a altas concentrações gasosas de poluentes primários apresentaram aumento na densidade estomática.

Com relação à região peciolar, não foram encontradas modificações na epiderme e nas regiões cortical e medular. Contudo, verificou-se diminuição no número de tricomas tectores presentes nessa área, bem como as mesmas alterações no formato característico, evidenciando-se estruturas captadas quando da análise do tratamento ácido (T2). Segundo Toscano et al. (2001), os tricomas exercem função de proteção à planta,

inclusive na defesa contra insetos. A diminuição do número de tricomas glandulares (que possuem propriedade repelente) e tricomas tectores, bem como a alteração morfológica destes (os ganchos presentes nos tricomas prendem as garras tarsianas dos insetos, deixando-os sem mobilidade e levando-os à morte) podem tornar a planta mais suscetível aos ataques de insetos.

Conclusão

A partir dos resultados observados, conclui-se que, em relação à clorofila, a cultivar de *Phaseolus vulgaris* cv. IPR88 Uirapuru sofre lesão pela acidez das chuvas no estágio R₆, e, posteriormente desenvolve algum mecanismo de resistência à acidez no estágio R₇. A clorofila degradada não é convertida em feofitina. Com relação às injúrias foliares, pode-se afirmar que ocorrem apenas injúrias leves quando da exposição ao tratamento ácido (T2). Esta cultivar apresenta relativa resistência à acidez das chuvas simuladas, merecendo estudos mais aprofundados, principalmente em condições de campo.

Agradecimentos

Ao Colégio Estadual Agrícola Augusto Ribas, Ponta Grossa, Estado do Paraná, pela colaboração na condução da parte prática deste trabalho em sua casa-de-vegetação.

Referências

- ALVES, E. S.; TRESMONDI, F.; LONGUI, E. L. Análise estrutural de folhas de *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) coletadas em ambientes rural e urbano, SP, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 22, n. 1, p. 241-248, 2008.
- ALVES, P. L. C. A.; OLIVA, M. A.; CAMBRAIA, J.; SANT'ANNA, R. 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**, v. 2, n. 1, p. 7-14, 1990.
- APHA-American Public Health Association. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 20th ed. Washington, D.C.: APHA, 1998.
- BARNES, J. D.; BALAGUER, L.; MANRIQUE, E.; ELVIRA, S.; DAVIDSON, A. W. A reappraisal of DMSO for extraction and determination of chlorophyll a and b in lichens and higher plants. **Environmental Experience Botany**, v. 32, n. 1, p. 85-100, 1992.
- BRENA, N. A. **A chuva ácida e os seus efeitos sobre as florestas**. São Paulo: Brena, 2002.
- CHAVES, A. L. F.; SILVA, E. A. M.; AZEVEDO, A. A.; CANO, M. A. O.; MATSUOKA, K. The action of dissolved fluoride in artificial rain on leaf structure of *Panicum maximum* Jacq. (colonião) and *Chloris gayana* Kunth. (capim-rhodes) – Poaceae. **Acta Botanica Brasilica**, v. 16, n. 1, p. 395-406, 2002.
- CÓNSUL, J. M. D.; THIELE, D.; VESES, R. C.; BAIBICH, I. M.; DALLAGO, R. M. Decomposição catalítica de óxidos de nitrogênio. **Química Nova**, v. 27, n. 3, p. 432-440, 2004.
- DOOREMBOS, J.; KASSAM, A. H. **Efectos del agua en el rendimiento de los cultivos**. Roma: FAO, 1979.
- EVANS, L. S.; GMUR, N. F.; DA COSTA, F. Leaf surface and histological perturbations of leaves of *Phaseolus vulgaris* and *Helianthus annuus* after exposure to simulated acid rain. **American Journal of Botany**, v. 64, n. 1, p. 903-913, 1977.
- FAN, H. B.; WANG, Y. H. Effects of simulated acid rain on germination, foliar damage, chlorophyll contents and seedling growth of five hardwood species growing in China. **Forest Ecology and Management**, v. 126, n. 1, p. 321-329, 2000.
- FERNÁNDEZ, F.; GEPTS, P.; LOPEZ, M. **Etapas de desarrollo de la planta de frijol común**. Cali: Centro Internacional de Agricultura Tropical, 1982.
- HISCOX, J. D.; ISRAELSTAM, G. F. A method for extraction of chlorophyll from leaf without maceration. **Canadian Journal of Botany**, v. 57, n. 1, p. 1332-1334, 1979.
- JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw Hill Book, 1940.
- LIMA JUNIOR, E. C.; ALVARENGA, A. A.; CASTRO, E. M.; VIEIRA, C. V.; OLIVEIRA, H. M. Trocas gasosas, características das folhas e crescimento de plantas jovens de *Cupania vernalis* Camb. submetidas a diferentes níveis de sombreamento. **Ciência Rural**, v. 35, n. 5, p. 1092-1097, 2005.
- MARQUES, R.; ZAMPARONI, C. A. G. P.; CASTRO E SILVA, E.; BARBOSA, A. M.; ARRUDA, D.; EVANGELISTA, S.; MAGALHÃES, A. Ensaio preliminar para o monitoramento da acidez da chuva em Cuiabá, MT. **Caminhos de Geografia**, v. 21, n. 17, p. 225-236, 2006.
- MIGLIAVACCA, D. M.; TEIXEIRA, E. C.; MACHADO, A. C. M. Composição química da precipitação atmosférica no sul do Brasil – Estudo Preliminar. **Química Nova**, v. 28, n. 1, p. 371-379, 2005.
- MIRLEAN, N.; VANZ, A.; BAISCH, P. Níveis e origem da acidificação das chuvas na região do Rio Grande, RS. **Química Nova**, v. 23, n. 5, p. 590-593, 2000.
- NEVES, O. S. C.; CARVALHO, J. G.; MARTINS, F. A. D.; PÁDUA, T. R. P.; PINHO, P. J. Uso do SPAD-502 na avaliação dos teores foliares de clorofila, nitrogênio, enxofre, ferro e manganês do algodoeiro herbáceo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 1, p. 517-521, 2005.
- O'BRIEN, T. P.; FEDER, N.; MCCULLY, M. E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, v. 59, n. 1, p. 368-373, 1965.
- OLIVA, M. A.; FIGUEIREDO, J. G. Gramíneas bioindicadoras da presença de flúor em regiões tropicais. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 28, n. 2, p. 389-397, 2005.

- PEREIRA, A. B.; VRISMAN, A. L.; GALVANI, E. Estimativa da radiação solar global diária em função do potencial de energia solar na superfície do solo. **Scientia Agricola**, v. 59, n. 2, p. 211-216, 2002.
- ROESER, K. R. Die nadel der schwarzkiefer massenprodukt und kunstwerk der natur. **Mikrokosmos**, v. 61, n. 1, p. 33-36, 1962.
- SANT'ANNA-SANTOS, B. F.; SILVA, L. C.; AZEVEDO, A. A.; AGUIAR, R. Effects of simulated acid rain on leaf anatomy and micromorphology of *Genipa americana* L. (Rubiaceae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 49, n. 1, p. 313-321, 2006.
- SHAN, Y. Effects of simulated acid rain on *Pinus densiflora*: inhibition of net photosynthesis by the pheophytization of chlorophyll. **Water, Air and Soil Pollution**, v. 103, n. 1, p. 121-127, 1998.
- SILVA, L. C.; AZEVEDO, A. A.; SILVA, E. A. M.; OLIVA, M. A. Fluoride in simulated rain: symptomatology and effects on leaf structure and growth of wood plants. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 23, n. 1, p. 385-393, 2000.
- SILVA, L. C.; OLIVA, M. A.; AZEVEDO, A. A.; ARAÚJO, J. M.; AGUIAR, R. M. Micromorphological and anatomical alterations caused by simulated acid rain in resting plants: *Eugenia uniflora* and *Clusia Hilariana*. **Water, Air and Soil Pollution**, v. 158, n. 1, p. 129-143, 2005.
- SOUZA, J. L. M.; GOMES, S. Limites na utilização de um modelo de balanço hídrico decendial em função da capacidade de água disponível no solo. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 30, n. 2, p. 153-163, 2008.
- SOUZA, P. A.; MELLO, W. Z.; MALDONADO, J.; EVANGELISTA, H. Composição química da chuva e aporte atmosférico na Ilha Grande, RJ. **Química Nova**, v. 29, n. 3, p. 471-476, 2006.
- STREIT, N. M.; CANTERLE, L. P.; CANTO, M. W.; HECKTHEUER, L. H. H. As clorofilas. **Ciência Rural**, v. 35, n. 1, p. 748-755, 2005.
- SZABO, A. V.; DOMINGOS, M.; RINALDI, M. C. S.; DELITTI, W. B. C. Acúmulo de enxofre e suas relações com alterações no crescimento de plantas jovens de *Tibouchina pulchra* Cogn. (Melastomataceae) expostas nas proximidades do pólo industrial de Cubatão, SP. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26, n. 1, p. 379-390, 2003.
- TOSCANO, L. C.; BOICA JUNIOR, A. L.; SANTOS, J. M.; ALMEIDA, J. B. S. A. Types of trichomes in *Lycopersicon* genotypes. **Horticultura Brasileira**, v. 19, n. 3, p. 336-338, 2001.
- TRESMONDI, A. C. C. L.; TOMAZ, E.; KRUSCHE, A. V. Avaliação de pH e composição iônica das águas de chuva em Paulínia-SP. **Engenharia Ambiental**, v. 2, n. 1, p. 70-84, 2005.

Received on July 7, 2008.

Accepted on November 19, 2008.

License information: This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.