

INTRODUÇÃO GERAL

Métodos físico-químicos são utilizados para avaliar, em nível local, regional, nacional e internacional, as concentrações ambientais de poluentes. Os resultados dessas medidas, porém, não permitem conclusões imediatas sobre os impactos das concentrações de poluentes sobre os seres vivos (DOMINGOS et al., 2004). O uso de bioindicadores torna-se, portanto, uma metodologia adequada para a detecção de impactos causados por agentes poluidores sobre os organismos (KLUMPP, 2001).

O termo bioindicador refere-se ao uso de um organismo (ou parte dele) para a obtenção de informações quantitativas sobre a qualidade ambiental (MacFARLANE et al., 2003; MADEJÓN et al., 2004). Uma distinção vem sendo necessariamente feita entre o uso dos termos bioindicadores e biomonitores no estudo da poluição. O primeiro revela a presença ou ausência de um agente poluente enquanto que o segundo fornece informações adicionais acerca da quantidade e intensidade da exposição ao poluidor (RIBAS e PEÑUELAS, 2003).

Alguns cuidados devem ser tomados no momento da escolha de um organismo bioindicador. A princípio, a espécie à qual pertence este organismo deve ser abundante na área de estudo e de fácil amostragem. Além disso, deve

apresentar relativa tolerância ao fator poluidor que se deseja quantificar (LINTON e WARNER, 2003).

As plantas, em geral, são muito úteis pra o monitoramento do potencial tóxico de poluentes aos seres vivos (DOMINGOS et al., 2004). Na França, plantas de *Pinus halepensis* Mill., quando expostas a um alto índice de poluentes (NO, NO₂, NO_x, O₃ e SO₂) mostram aumento no conteúdo de compostos fenólicos (PASQUALINI et al., 2003). Plantas de fumo (*Nicotiana tabacum*) são também muito usadas para monitorar os níveis de ozônio em algumas cidades da Europa e seus sintomas podem ser facilmente observados nas plantas envasadas e comparados com o monitoramento físico-químico (GODZIK, 2000). No Brasil, na Cidade de São Paulo, plantas de *Tradescantia pallida* e de *Nicotiana tabacum* são utilizadas como bioindicadoras da concentração de ozônio na atmosfera (DOMINGOS et al., 2004).

Trabalhos recentes mostram que espécies vegetais do manguezal podem ser utilizadas como bioindicadoras (MacFARLANE e BURCHETT, 2001; DUKE e WATKINSON, 2002; MacFARLANE et al. 2003; BELL e DUKE, 2004). Em *Avicennia marina*, a absorção de metais pesados (Cu, Zn e Pb) induzem a queda do conteúdo de pigmentos (clorofila e pigmentos carotenóides) e uma conseqüente redução da atividade fotossintética. Soma-se a isso, o aumento na atividade de enzimas antioxidantes, o que leva MacFARLANE e BURCHETT (2001) a sugerirem o uso dessas características como indicadoras do estresse à exposição das plantas a esses elementos.

Elevadas concentrações de óleo no sedimento são responsáveis por mutações em propágulos de plantas do gênero *Rhizophora* e *Avicennia* em manguezais da Austrália. Estes propágulos mutantes são chamados de “albinos”, uma vez que não produzem clorofila (DUKE e WATKINSON, 2002).

De acordo com FRY et al. (2000), citando outros autores, a elevada concentração de enxofre no sedimento inibe o metabolismo normal das raízes, deprimindo processos de demanda de energia requeridos para a absorção de nutrientes minerais, dentre eles o nitrogênio, importantes para o desenvolvimento

normal das plantas. Porém, este efeito pode ser revertido pela adição de fertilizantes.

A concentração de pigmentos fotossintéticos pode ser alterada por uma variedade de fatores ambientais, sugerindo sua utilização como indicador das condições ambientais (MacFARLANE e BURCHETT, 2001). Variações nos teores de pigmentos fotossintéticos geralmente estão associadas a alterações no desempenho fotossintético (MacFARLANE e BURCHETT, 2001). Essas alterações induzem a redução no crescimento das plantas e conseqüente queda na produtividade do ecossistema (MacFARLANE, 2002).

A fluorescência da clorofila é aplicada como uma técnica não destrutiva e muito sensível para avaliar o estado fisiológico do aparelho fotossintético (HONG e XU, 1999; BAKER e ROSENQVIST, 2004). Uma vez que a fluorescência da clorofila *a* é quase exclusivamente originada de moléculas de clorofila *a* associadas ao fotossistema II, ela reflete as reações fotossintéticas primárias nas membranas dos tilacóides (BRON et al, 2004). Variações na emissão da fluorescência da clorofila *a* são indicações de mudanças na atividade fotossintética e refletem os efeitos de estresse ambiental sobre o aparelho fotossintético (HONG e XU, 1999; KAO e TSAI, 1999; GONÇALVES, et al., 2001; SAYED, 2003; BAKER e ROSENQVIST, 2004; BRON et al., 2004). Assim, BELL e DUKE (2004) observaram que a aplicação de herbicidas em plântulas de *Rhizophora stylosa*, *Ceriops australis*, *Avicennia marina*, *Aegiceras corniculatum*, *A. corniculatum* e *C. australis* inibe o transporte de elétrons no fotossistema II aumentando a emissão da fluorescência da clorofila *a* nestas espécies.

Alterações da eficiência fotoquímica do fotossistema II podem também levar a uma limitação da assimilação do CO₂ (LIMA, et al., 2002). Como conseqüência, ocorre a super-redução da cadeia de elétrons fotossintéticos, culminando na formação de espécies reativas de oxigênio (ERO), que podem levar a danos fotoinibitórios e fotooxidativos (MARSCHNER, 1995; ASADA, 1999; VERMA e DUBEY, 2003). Para combater esses danos oxidativos, as plantas têm um sistema de defesa composto por várias enzimas antioxidantes, dentre elas, as peroxidases (EC 1.11.1.7) que utilizam o H₂O₂ para a oxidação de vários

substratos orgânicos e inorgânicos produzidos durante as condições de estresse (VERMA e DUBEY, 2003).

Os manguezais formam comunidades únicas ao longo de regiões costeiras tropicais e subtropicais do globo terrestre (TAKEMURA et al., 2000; YE et al., 2003). Por ser um ecossistema de características muito peculiares, apresenta tipicamente poucas espécies vegetais (aproximadamente 70) distribuídas em 20 diferentes famílias (DUKE e WATKINSON, 2002). No Estado do Espírito Santo, os manguezais são encontrados de norte a sul do sendo sua maior concentração na Baía de Vitória (20°15'48"S; 40°18'17"W) com uma área de aproximadamente 18 Km² (CARMO et al., 1995). Apesar de sua importância ecológica, social e econômica, este ecossistema sofre impactos das mais diversas naturezas.

Baseado nesses fatos, o objetivo deste trabalho foi avaliar, em condições de campo, o conteúdo de pigmentos fotossintéticos, a cinética da emissão da fluorescência da clorofila *a* e a atividade da peroxidase em plantas jovens de *Rhizophora mangle* e *Laguncularia racemosa*, como possíveis características indicadoras de estresse ambiental.

REFERÊNCIAS

- ASADA, K. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygen and dissipation of excess photons. **Annual Review Plant Physiology Plant Molecular Biology**. v.50, p.601-639, 1999.
- BAKER, N. R., ROSENQVIST, E. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. **Journal of Experimental Botany**. v.55, n.403, p.1607-1621, 2004.
- BELL, A. M., DUKE, N. C. Effects of photosystem II inhibiting herbicides on mangroves – preliminary toxicology trials. **Marine Pollution Bulletin**, 2004 (no prelo).
- BRON, I. U., RIBEIRO, R. V., AZZOLINI, M., JACOMINO, A. P., MACHADO, E. C. Chlorophyll fluorescence as a tool to evaluate the ripening of “Golden” papaya fruit. **Postharvest Biology and Technology**. v.33, p.163-173, 2004.
- CARMO, T. M. S., BRITO-ABAURRE, M. G.; MELO, R. M. S.; ZANOTTI-XAVIER, S.; COSTA, M. B.; HORTA, M. M. M. Os manguezais da baía norte de

Vitória, Espírito Santo: um ecossistema ameaçado. **Revista Brasileira de Botânica**. v.55, n. 4, p.801-818, 1995.

DOMINGOS, M., SANT'ANNA, S. M. R., SOUZA, S. R., SANT'ANNA, E. T. G., ALVES, E. S., SALDIVA, P. H. N. Bioindicação na cidade de São Paulo e aplicações em saúde pública. *In: Anais do 55º Congresso Nacional de Botânica*. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2004.

DUKE, N. C. & WATKINSON, A. J. Chlorophyll-deficient propagules of *Avicennia marina* and apparent longer term deterioration of mangrove fitness in oil-polluted sediments. **Marine Pollution Bulletin**, v.44, p. 1269-1276, 2002.

FALKOWSKI, P. G. & RAVEN, J. A. **Aquatic Photosynthesis**. Blackwell, UK, 1997.

FELLER, I. C. Effects of nutrient enrichment on growth and herbivory of dwarf red mangrove (*Rhizophora mangle* L.). *In: FRY, B., BERN, A. L., ROSS, M. S., MEEDER, J. F.* $\delta^{15}\text{N}$ studies of nitrogen use by the red mangrove, *Rhizophora mangle* L. in South Florida, **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 50, p. 291-296, 2000.

FRY, B., BERN, A. L., ROSS, M. S., MEEDER, J. F. $\delta^{15}\text{N}$ studies of nitrogen use by the red mangrove, *Rhizophora mangle* L. in South Florida, **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 50, p. 291-296, 2000.

GODZIK, B. The measurement to tropospheric ozone concentration in southern Poland using passive samplers and plant bioindicators. **Archives of Environmental Protection**, v.26, p.7-19, 2000.

GONÇALVES, J. F., MARENCO, R. A. & VIEIRA, G. Concentration of photosynthetic pigments and chlorophyll fluorescence of mahogany and tonka bean under two light environments. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.13, n.2, p.149-157, 2001.

HONG, S-S., XU, D-Q. Light-induced increase in initial chlorophyll fluorescence F_0 level and the reversible inactivation of PS II reaction centers in soybean leaves. **Photosynthesis Research**. V.61, p.269-280, 1999.

KAO, W., TSAI, H. The photosynthesis and chlorophyll a fluorescence in seedlings of *Kandelia candel* (L.) Druce grown under different nitrogen and NaCl controls. **Photosynthetica**. v.37 (3), p.405-412, 1999.

KLUMPP, A. Utilização de bioindicadores de poluição em condições temperadas e tropicais. *In*: MARTOS, H.L., MAIS, N.B., BARRELLA, W. (eds.) **Indicadores ambientais – temas atuais**. PUC São Paulo, São Paulo, 2001.

KOCH, M. S., MENDELSSOHN, I. A., MECKEE, K. L. Mechanism for the hydrogen sulfide-induced growth limitation in wetland macrophytes. *In*: FRY, B., BERN, A. L., ROSS, M. S., MEEDER, J. F. $\delta^{15}\text{N}$ studies of nitrogen use by the red mangrove, *Rhizophora mangle* L. in South Florida, **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 50, p. 291-296, 2000.

LIMA, A. L. S., Da MATTA, F. M., PINHEIRO, H. A., TOTOLA, M.R., LOUREIRO, M. E. Photochemical responses and oxidative stress in two clones of *Coffea canephora* under water deficit conditions. **Environmental and Experimental Botany**. v.47, p.239-247, 2002.

LINTON, D. M. e WARNER, G. F. Biological indicators in the Caribbean coastal zone and their role in integrated coastal management. **Ocean & Coastal Management**. v,46, p.261-276.

MAcFARLANE, G. R. Leaf biochemical parameters in *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh as potential biomarkers of heavy metal stress in estuarine ecosystems. **Marine Pollution Bulletin**. v.44, p.244-256, 2002.

MAcFARLANE, G. R., BURCHETT, M. D. Photosynthetic pigments and peroxidase activity as indicators of heavy metal stress in the grey mangrove, *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. **Marine Pollution Bulletin**. v.42, n.3, p.233-240, 2001.

MAcFARLANE, G. R., PULKOWNIK, A., BURCHETT, M. D. Accumulation and distribution of heavy metals in the grey mangrove, *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh.: biological indication potential. **Environmental Pollution**. v.123, p.139-151, 2003.

MADEJÓN, P., MARAÑÓN, T., MURILLO, J. M., ROBINSON, B. White poplar (*Populus alba*) as a biomonitor of trace elements in contaminated riparian forests. **Environmental Pollution**. v.132, p.145-155, 2004.

MARSCHNER, H. **Mineral Nutrition of Higher Plants**. Second edition. Academic press, 1995. 889p.

- PASQUALINI, V., ROBLES, C., GARZINO, S., GRE, S., BOUSQUET-MELOU, A. Phenolic compounds content in *Pinus halepensis* Mill. Needles: a bioindicator of air pollution. **Chemosphere**. v.52, p.239-248, 2003.
- RIBAS, A., PENUELAS, J. Biomonitoring of tropospheric ozone phytotoxicity in rural Catalonia. **Atmospheric Environment**. v.37, p.63–71, 2003.
- SAYED, O. H. Chlorophyll fluorescence as a tool in cereal crop research. **Photosynthetica**. v.43, n.3., p.321-330, 2003.
- TAKEMURA, T., HANAGATA, N., SUGIHARA, K., BABA, S., KARUBE, I., DUBINSKY, Z. Physiological and biochemical responses to salt stress in the mangrove, *Bruguiera gymnorhiza*. **Aquatic Botany**. v.68, p.15-28, 2000.
- VERMA, S., DUBEY, R. S. Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants. **Plant Science**. v.164, p.645-655, 2003.
- YE, Y., NORA, F. Y., WONG, Y. S., LU, C. Y. Growth and physiological responses of two mangroves species (*Bruguiera gymnorhiza* and *Kandelia candel*) to waterlogging. **Environmental and Experimental Botany**. v.49, p.209-221, 2003.

CAPÍTULO 1

PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS EM *Rhizophora mangle* L. E *Laguncularia racemosa* GAERTH. COMO INDICADORES DAS CONDIÇÕES AMBIENTAIS NO MANGUEZAL DA ILHA DE VITÓRIA-ES

RESUMO

Este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar os efeitos das alterações ambientais sobre o conteúdo de pigmentos fotossintéticos em plantas jovens de *Rhizophora mangle* L. e *Laguncularia racemosa* Gaerth. Os dados foram coletados durante o período de chuva e de seca, em quatro pontos do manguezal de Vitória, ES. Os resultados mostraram maior concentração de clorofila *a* e de clorofila *b* nos pontos de maior concentração de poluentes, tanto em *R. mangle* quanto em *L. racemosa*. Nenhuma diferença significativa na razão clorofila *a/b* foi observada entre os pontos e períodos analisados. Entretanto, essa razão mostrou-se fortemente reduzida. A concentração de pigmentos carotenóides foi elevada em *R. mangle* no ponto 2 nos dois períodos analisados, enquanto em *L. racemosa* houve variação na concentração desse pigmento nos pontos 2 e 4 somente no período de chuvas. Quando se comparou o conteúdo de pigmentos carotenóides entre o período chuvoso e o período seco, observou-se aumento na síntese desse pigmento acessório em ambas as espécies no período seco. Aumento nas concentrações de clorofila *a* e *b* e de pigmentos carotenóides, bem como decréscimos na razão clorofila *a/b*, representam respostas fisiológicas das plantas a fatores abióticos de estresse, sugerindo o uso potencial dessas características fisiológicas como indicadoras de mudanças ambientais.

Palavras-chave: Indicadores; *Laguncularia racemosa* Gaerth.; Manguezal; Pigmentos fotossintéticos; *Rhizophora mangle* L.

CHAPTER 1

PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS IN *Rhizophora mangle* L. AND *Laguncularia racemosa* GAERTH. AS INDICATORS TO ENVIRONMENTALS CONDITIONS IN THE MANGROVE FOREST OF ISLAND OF VITORIA-ES

ABSTRACT

This research was done to evaluate the environmental effects of alterations on photosynthetic pigments content in *Rhizophora mangle* L. and *Laguncularia racemosa* Gaerth. plants. The data were collected during the rain and drought periods in four points at mangroves of Vitoria, ES. The results show increase of chlorophyll concentration in *R. mangle* and *L. racemosa* in the points at higher pollution concentration. The variations in the chlorophyll *a* and *b* content influenciated directly in the values of chlorophyll *a/b* ratio, which was show strongly reduced in the points analyzed during the rain and drought periods. Its decrease was due to high chlorophyll *b* content. The pigments carotenoids concentration was higher in *R. mangle* in the point number 2 in the two analyzed periods. In *L. racemosa* carotenoids content variation was observed between the points only during the rain period, where was observed significant increase of this pigment in the points 2 and 4. When the carotenoids content was compared between the rainy period and dry period, increase was observed in the synthesis this accessory pigment in *R. mangle* and *L. racemosa* in dry period.

Keywords: Indicators; *Laguncularia racemosa* Gaerth.; Mangroves; Photosynthetic pigments; *Rhizophora mangle* L.

1. INTRODUÇÃO

Os manguezais formam comunidades únicas em regiões costeiras tropicais e subtropicais do globo terrestre sendo um componente ecologicamente essencial de proteção contra a ação das marés (TAKEMURA et al., 2000; YE et al., 2003).

Por ser um ecossistema de características muito peculiares, apresenta tipicamente poucas espécies vegetais (aproximadamente 70) distribuídas em 20 diferentes famílias (DUKE e WATKINSON, 2002). O sucesso dessas espécies neste ambiente é atribuído às adaptações morfológicas e fisiológicas adquiridas durante episódios de evolução convergentes e comuns às espécies (DUKE et al., 1998). Essas adaptações permitem sua sobrevivência aos elevados teores de salinidade, às oscilações nos níveis de oxigênio no sedimento encharcado e à deficiência de nutrientes (LI, 1997; VAZQUEZ et al., 2000; HOLGUIN, et al., 2001; NIELSEN e ANDERSEN, 2003).

No Espírito Santo, os manguezais são encontrados desde o norte até o sul do Estado, sendo sua maior concentração na Baía de Vitória, com 18 Km² de área (CARMO et al., 1995). Mesmo reconhecendo sua importância social e econômica para a comunidade, o manguezal de Vitória vem sofrendo impactos das mais diversas naturezas. Estes impactos podem ser determinados por meio de análises fisiológicas e bioquímicas, refletindo bem, em alguns casos, os efeitos deletérios das alterações ambientais.

Estudos sugerem o uso de espécies vegetais do manguezal como bioindicadoras tornando possível sua utilização em projetos direcionados à avaliação de impactos ambientais (MacFARLANE e BURCHETT, 2001; DUKE e WATKINSON, 2002; MacFARLANE et al., 2003; BELL e DUKE, 2004).

A concentração de pigmentos fotossintéticos é uma característica da planta que pode ser alterada por uma variedade de fatores ambientais, como salinidade (TAKEMURA et al., 2000; LU et al., 2002; LEE et al., 2004), irradiância (CARNICAS et al., 1999; GONÇALVES et al., 2001; BEHERA e CHOUDHURY, 2002), alagamento (YE et al., 2003), metais pesados (MacFARLANE e BURCHETT, 2001; MacFARLANE, 2002), estado nutricional (BALAKRISHNAN et al., 2000; MADEJÓN et al., 2004), poluentes (DUKE e WATKINSON, 2002) sendo, portanto, uma potencial indicadora das condições adversas do ambiente (MacFARLANE e BURCHETT, 2001).

Variações nos teores de pigmentos fotossintéticos implicam em alterações da atividade fotossintética (MacFARLANE e BURCHETT, 2001) e no comprometimento da eficiência do fotossistema II (FSII) em absorver a energia luminosa (FALKOWSKI e RAVEN, 1997). Como resultado dessas variações, ocorrem mudanças nos processos de fixação do carbono, gerando alterações no crescimento das plantas e na produtividade do ecossistema (MacFARLANE, 2002).

Dentro desse contexto, este estudo avaliou a concentração de pigmentos fotossintéticos em plantas de *Rhizophora mangle* e *Laguncularia racemosa*, no manguezal de Vitória, ES, durante os períodos chuvoso e seco, como potencial indicadora de qualidade ambiental.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material vegetal e Condições de amostragem

Plantas jovens de *Rhizophora mangle* L. e *Laguncularia racemosa* Gaerth., com aproximadamente 500 mm de altura, foram selecionadas em quatro pontos do manguezal de Vitória, ES (Anexo A). A localização geográfica e a descrição das principais características de cada ponto são mostradas na tabela 1.

Tabela 1 - Localização geográfica e principais características dos quatro pontos analisados no manguezal da Ilha de Vitória, ES.

Pontos	Localização	pH	Salinidade média	Descrição
1	20°15'20''S 40°18'3,4''W	7,0 ± 0,3	12,0 ± 5,6	Ilha do Lameirão, Ponto mais distante do mar
2	20°15'14''S 40°17'36''W	7,1 ± 0,3	9,0 ± 2,1	Bairro Jabour-Goiabeiras Poluição de origem antrópica
3	20°16'31''S 40°18'19''W		22,0 ± 6,6	Próximo ao Depto. Ecologia/UFES
4	20°17'5,5''S 40°18'10''W	6,7 ± 0,2	24,0 ± 4,4	Próximo à Ponte da Passagem
		7,1 ± 0,3		

As coletas foram realizadas mensalmente durante o período de chuvas e de seca da região. Os índices de precipitação média foram de 171 mm e 63 mm no período de chuvas e no período seco, respectivamente. A média de temperatura mínima e máxima foi de 22 e 30°C no período de chuvas e 19 e 26°C no período seco, respectivamente. As coletas foram realizadas nas primeiras horas do dia (6:30 a 8:00 horas) durante intervalos de maré baixa (aproximadamente 0,1m de altura).

2.2. Medidas da salinidade (S‰)

As medidas de salinidade foram realizadas *in situ* na rizosfera das mesmas plantas utilizadas para a dosagem de pigmentos fotossintéticos, utilizando-se um condutivímetro multiparâmetro portátil digital SCHOT Mod. LF1, seguindo a metodologia descrita por Fernandes (1997).

2.3. Análise química de solo

Foram coletados aproximadamente 500 g de sedimento da rizosfera das plantas analisadas, secos em estufa com circulação forçada de ar a 75°C (AWADA e LONG, 1969) e analisados quimicamente para P, K, Ca, Mg, S, Fe, Zn, Cu e Mn e matéria orgânica (MO) de acordo com os métodos descritos por Tedesco et al. (1985).

O P e o K foram extraídos com uma solução de HCl 0,05 N + H₂SO₄ 0,025 N e determinados por colorimetria e espectrofotometria de chama, respectivamente; o Ca e o Mg extraídos com KCl 1 N, sendo determinados por titulação com EDTA; o S foi extraído com HCl pelo método gravimétrico; os micronutrientes Fe, Cu, Mn e Zn foram extraídos com HCl 0,1 N e determinados por espectrofotometria de absorção atômica ; a porcentagem de matéria orgânica foi determinada após extração do carbono orgânico com

bicromato de potássio e titulação com sulfato ferroso, multiplicando-se o resultado por 1,724 (EMBRAPA, 1979).

2.4. Análise química foliar

As amostras foliares foram constituídas de aproximadamente 50 folhas adultas e verdes do terceiro par de folhas completamente expandidas. As amostras foram acondicionadas em saco de papel, para secagem em estufa com circulação forçada de ar a 75°C (AWADA e LONG, 1969) e analisadas quimicamente para N, P, K, Ca, Mg, S, Fe, Zn, Cu e Mn de acordo com os métodos descritos por Lott et al. (1956) e Sarruge e Haag (1974).

O N foi extraído com ácido sulfúrico e determinado por espectrofotometria com solução de indofenol; os nutrientes P, K, Ca, Mg, S, Fe, Cu, Mn e Zn foram submetidos à digestão nítrico-perclórica sendo as determinações do P feitas por colorimetria, K por espectrofotometria de chama e os demais nutrientes por espectrofotometria de absorção atômica.

2.5. Pigmentos Fotossintéticos

O teor de clorofila total, clorofila *a*, clorofila *b* e pigmentos carotenóides foi determinado após extração com acetona 80% (ARNON, 1949). As amostras foram constituídas de 150 mg de tecido foliar retiradas das mesmas folhas utilizadas para a análise de nutrientes. A concentração da clorofila *a*, *b*, total e pigmentos carotenóides foi estimada utilizando-se as equações deduzidas por Hendry e Grime (1993):

- $Clorofila\ a = (12,7 \times A_{663} - 2,69 \times A_{645}) \times 1,119$

- $Clorofila\ b = (22,9 \times A_{645} - 4,68 \times A_{663}) \times 1,102$

-

- $Carotenóides = (A_{480} + 0,114 \times A_{663} - 0,638 \times A_{645}) \times V / 112,5 \times M$, sendo V o volume do extrato em mL, M a massa fresca da folha em gramas e A a absorvância em vários comprimentos de onda indicados nas equações.

A concentração dos pigmentos foi expressa em $\mu\text{mol gMF}^{-1}$.

2.6. Análise Estatística

Este trabalho foi avaliado de acordo com um delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial (2 x 2 x 4), em dez repetições, representando duas espécies, dois períodos de precipitação (períodos chuvoso e seco) e quatro locais de coleta. Os dados foram submetidos a uma análise de variância e, quando os valores de F foram significativos, comparações de médias foram realizadas, usando-se o teste Tukey, em nível de 5% de probabilidade (PIMENTEL-GOMES, 1990).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observa-se nas figuras 1 e 2 que os teores de clorofila *a* e de clorofila *b* obtidos no período chuvoso e no período seco em *Rhizophora mangle* e em *Laguncularia racemosa* foram significativamente maiores nos pontos 2 e 4.

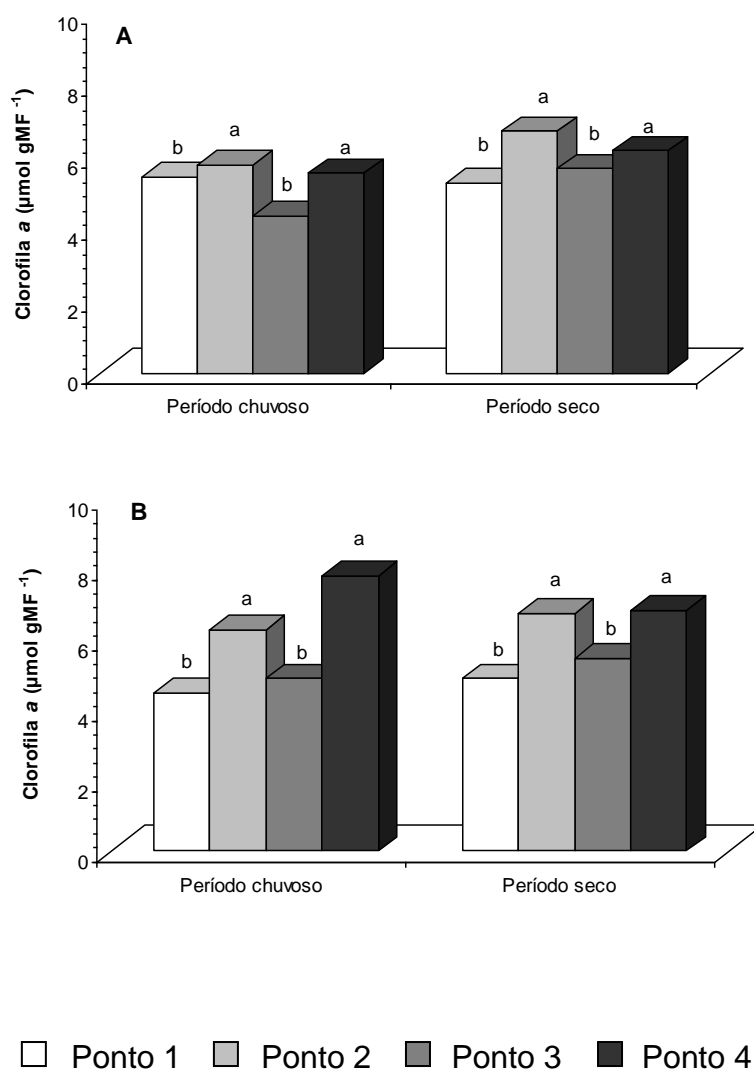


Figura 1 - Concentração de clorofila *a* em *Rhizophora mangle* L. (A) e *Laguncularia racemosa* Gaerth. (B) nos diferentes pontos do manguezal de Vitória-ES, nos períodos chuvoso e seco de 2004. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os pontos de acordo com o teste Tukey ($P \leq 0,05$). (n = 10)

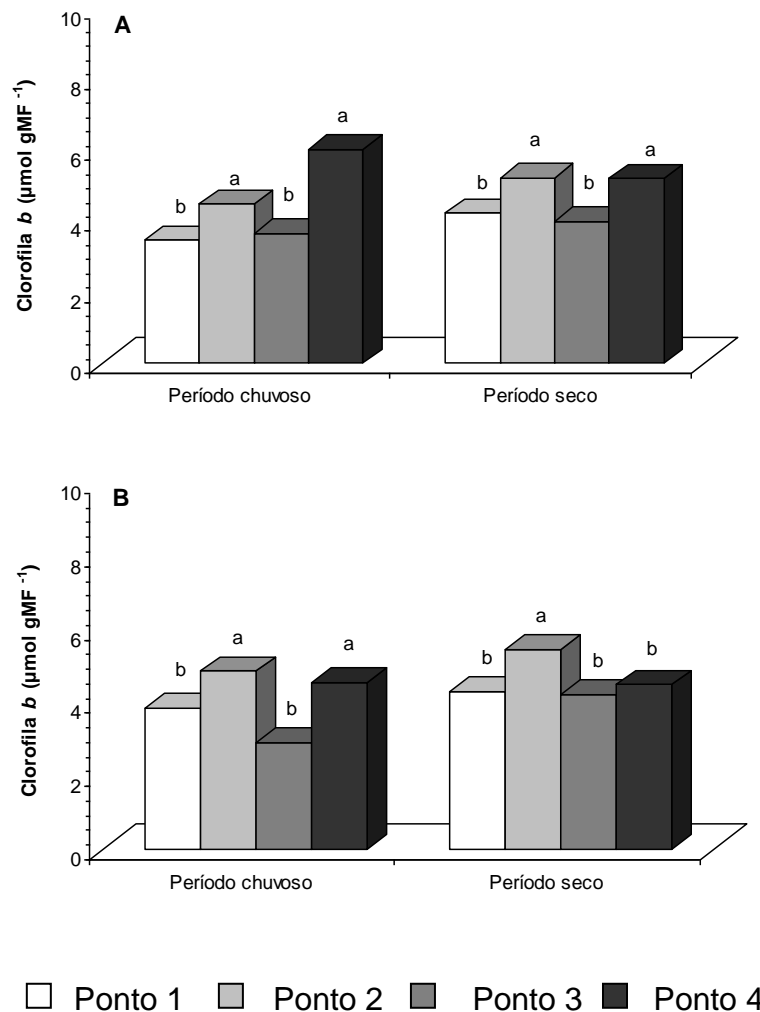


Figura 2 - Concentração de clorofila *b* em *Rhizophora mangle* L. (A) e *Laguncularia racemosa* Gaerth. (B) nos diferentes pontos do manguezal de Vitória-ES, nos períodos chuvoso e seco de 2004. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os pontos de acordo com o teste Tukey ($P \leq 0,05$). (n = 10)

O ponto 2 encontra-se localizado no bairro Jabour (grande Goiabeiras) e é contornado pelo manguezal. A influência antrópica neste manguezal é evidente, fato afirmado com base em observações visuais de esgoto doméstico e/ou de pequenas indústrias cujos resíduos são lançados diretamente no mangue, além da grande quantidade de lixo (pneus, plásticos, móveis inutilizáveis, latas, animais mortos, entre outros) depositada naquele ambiente. Durante intervalos de maré baixa, foi visualizada deposição de óleo na superfície do sedimento, provavelmente oriundos de pequenas oficinas mecânicas e de lavadores de carros localizados nas intermediações do bairro.

Estas fontes de poluição contribuem consideravelmente para a deposição de poluentes microrgânicos e de nutrientes nos ecossistemas de manguezal (LACERDA, apud OLIVEIRA et al., 2000). Neste estudo, alguns nutrientes minerais, como P, Zn e o Cu foram encontrados em maior concentração no sedimento do ponto 2 (Figura 3). O aumento na concentração de nutrientes neste ponto pode ter sido influenciado pelos fatores de origem antrópica citados.

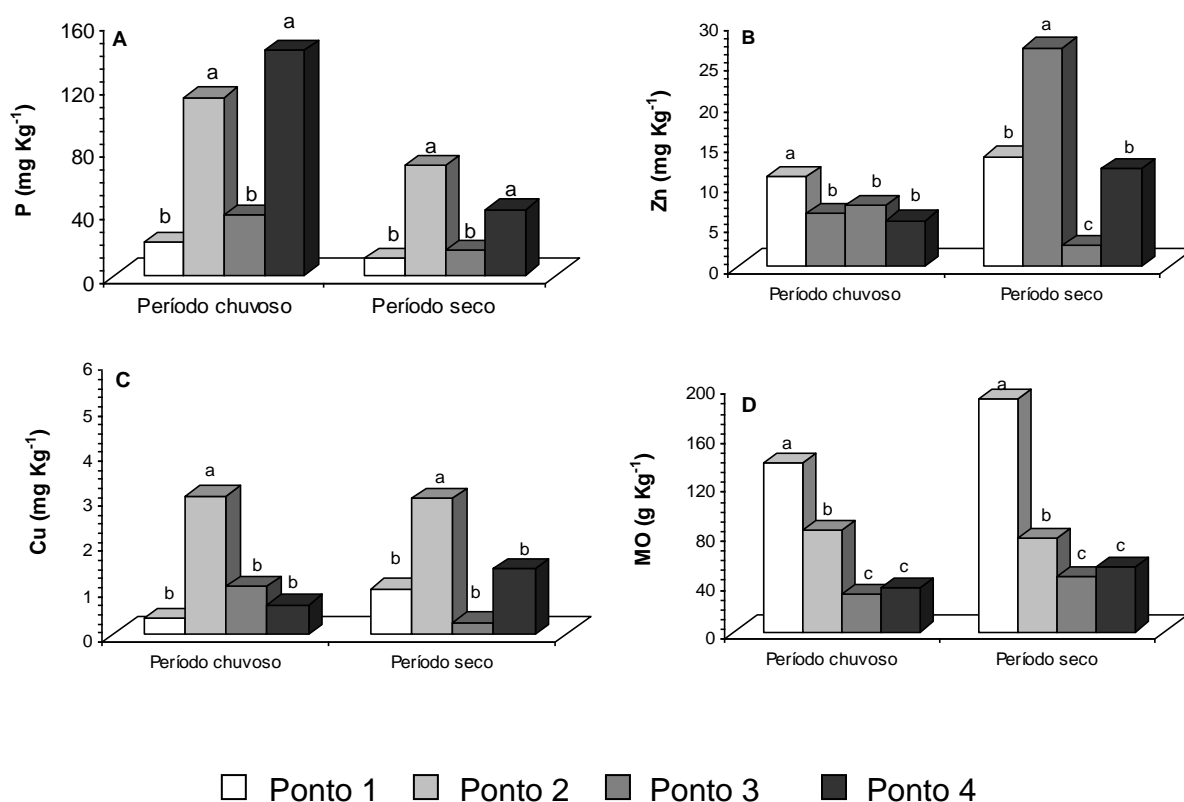


Figura 3 - Concentração de fósforo (A), zinco (B), cobre (C) e matéria orgânica, MO (D) no sedimento nos diferentes pontos do manguezal de Vitória/ES nos períodos chuvoso e seco de 2004. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os pontos para cada nutriente acordo com o teste Tukey ($P \leq 0,05$). Note que as escalas dos gráficos diferem para cada nutriente. ($n = 2$)

Durante o período de chuvas, os teores de nitrogênio nos tecidos foliares de *R. mangle* e *L. racemosa* foram significativamente maiores no ponto 2 (Figura 4) o que pode ter refletido em alterações no conteúdo de clorofila em ambas as espécies. Por outro lado, no período seco, observou-se maior concentração foliar de cobre em ambas as espécies (Figura 4E e 4F). Estes resultados vão de encontro com aqueles encontrados por Macfarlane e Burchett (2001) em plantas de *Avicennia marina*. Segundo os autores, estas plantas quando expostas a

elevados níveis de cobre não mostram alterações significativas nos teores de clorofila. Entretanto, neste estudo, o maior conteúdo de cobre nos tecidos foliares de *R. mangle* e *L. racemosa* no período seco parece justificar esse aumento na concentração de clorofila nestas espécies.

No manguezal estudado, observou-se menor conteúdo de matéria orgânica e maior concentração de cobre no sedimento do ponto 2 (Figura 3). Mesmo com menor conteúdo de matéria orgânica, *R. mangle* e *L. racemosa* mantiveram um alto teor de nitrogênio em seus tecidos foliares no período chuvoso e maior concentração de cobre no período seco (Figura 4). Estes resultados sugerem mecanismos fisiológicos que favorecem a absorção de nutrientes minerais mesmo quando estes se encontram em menor concentração no sedimento, indicando claramente o elevado grau de adaptação dessas espécies. Alguns estudos sugerem que concentração de nutrientes nos tecidos foliares de espécies vegetais do manguezal reflete bem sua disponibilidade no solo (LI, 1997; MADEJÓN et al., 2004). Porém, em *Aegiceras corniculatum*, crescidas em manguezais do Nordeste de Hainan (China), os níveis de nutrientes nos tecidos foliares parecem não ser determinados pela sua abundância no solo (CAI, apud LI, 1997).

O ponto 4, por sua vez, localiza-se próximo à desembocadura do rio do Canal da Passagem e, por isso, permanece alagado por mais tempo durante os intervalos de maré alta, submetendo as plantas às condições de baixa disponibilidade de oxigênio geradas pela condição de alagamento, além da exposição aos elevados teores salinos, que, neste ponto, foi em média de 27 ‰, valor significativamente maior que o encontrado no ponto 2 (Figura 5). O aumento no conteúdo de clorofila tanto no ponto 2 quanto no ponto 4 parece indicar um mecanismo de resposta destas plantas às adversidades do ambiente. No ponto 2, o aumento no conteúdo de clorofila pode ter sido gerado pela exposição das plantas a poluentes de origem antrópica e, no ponto 4, este aumento pode ter sido reflexo da elevada salinidade e das condições de baixa disponibilidade de oxigênio causadas pela exposição das plantas à condição de alagamento durante os intervalos de maré alta. Os maiores teores de nitrogênio nos tecidos foliares em *R. mangle* e *L. racemosa* durante o período chuvoso e a maior

concentração de cobre no período seco parecem ter induzido o aumento nos teores de pigmentos fotossintéticos.

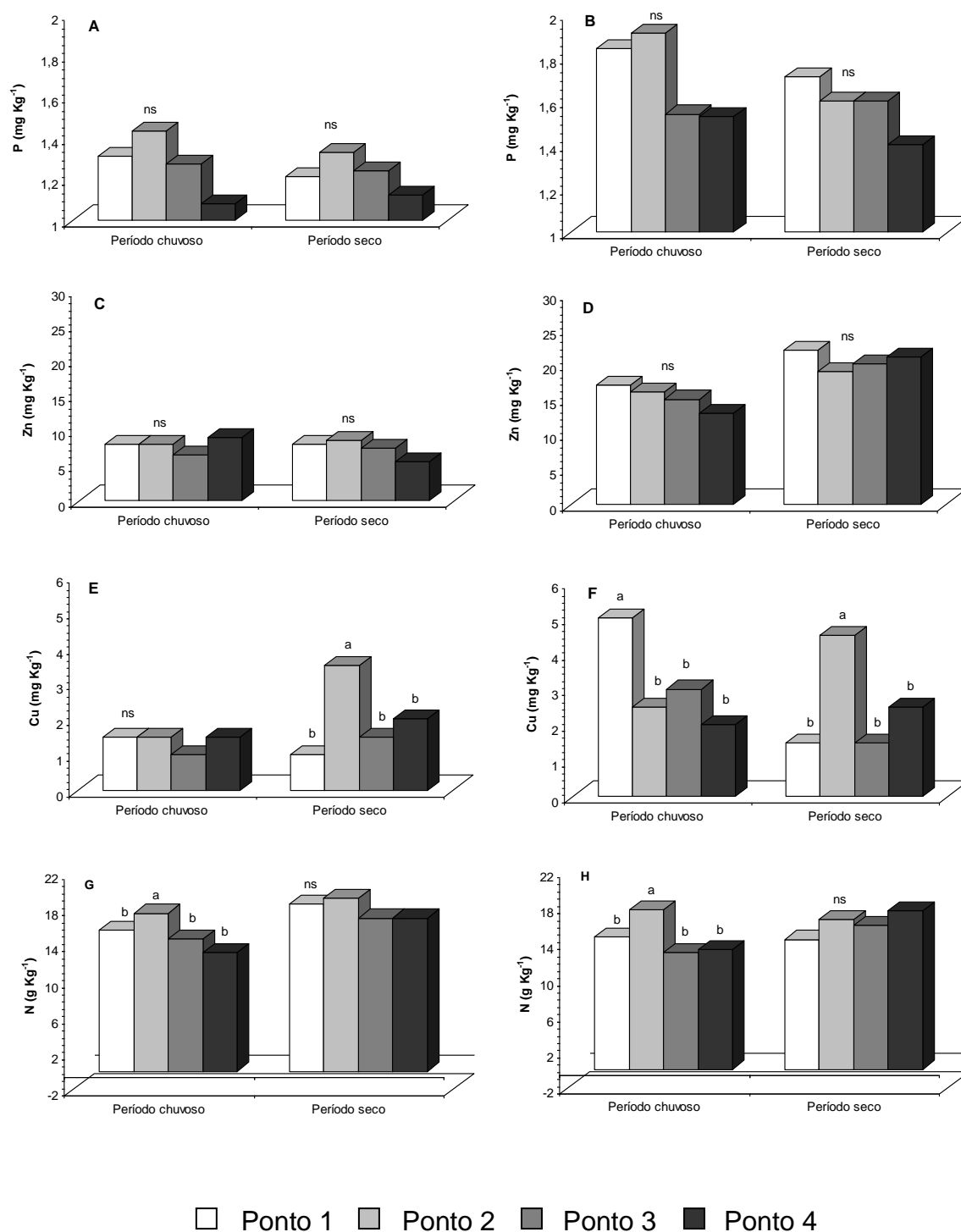


Figura 4 – Concentração de fósforo (A, B), zinco (C, D), cobre (E, F) e de nitrogênio (G, H) nos tecidos foliares de *Rhizophora mangle* L. (A, C, E e G) e *Laguncularia racemosa* Gaerth. (B, D, F e H) nos diferentes pontos do manguezal de Vitória, ES, nos períodos chuvoso e seco de 2004. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os pontos para cada nutriente de acordo com o teste Tukey ($P \leq 0,05$). Ns não significativo. Note que as escalas dos gráficos diferem para cada nutriente ($n = 2$)

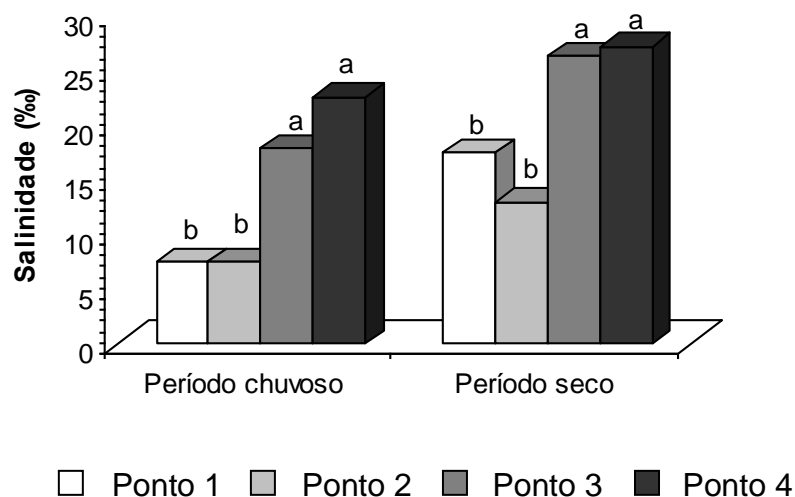


Figura 5 - Salinidade da água intersticial nos diferentes pontos do manguezal de Vitória-ES, nos períodos chuvoso e seco de 2004. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os pontos de acordo com o teste Tukey ($P \leq 0,05$). ($n = 5$)

Os resultados supracitados evidenciam os efeitos da interferência antrópica no ecossistema de manguezal, bem como a flexibilidade das respostas fisiológicas das espécies vegetais desse ecossistema aos agentes poluidores.

Ao contrário dos resultados observados neste estudo, o conteúdo de clorofila em *Suaeda salsa*, uma espécie C_3 halófito, economicamente importante na China pela riqueza de óleos presentes em suas sementes, facilmente convertidos em compostos químicos para uso industrial, não mostra alterações sob diferentes níveis de salinidade (LU et al., 2002). Por outro lado, o conteúdo de clorofila *a* aumenta em *Bruguiera gymnorrhiza* com o incremento da concentração de sal na solução nutritiva (TAKEMURA et al., 2000), de modo semelhante ao encontrado em *R. mangle* e em *L. racemosa* no ponto 4. Também, Ye et al. (2003) relatam que ocorre um aumento no conteúdo de clorofila em *Bruguiera gymnorrhiza* e *Kandelia candel* sob maior tempo de exposição ao alagamento, da mesma forma que os observados neste estudo no ponto 4.

Não houve diferença significativa na razão clorofila *a/b* nos quatro pontos analisados nem entre os períodos chuvoso e seco (Figura 6). Porém, esta razão mostrou-se fortemente reduzida considerando que em plantas sob condições

normais essa razão é de 3:1 (HALL e RAO, 1980). Um declínio da razão clorofila *a/b* pode refletir danos no complexo central do FSII, uma vez que a clorofila *b* está localizada no complexo coletor de luz do FSII e que sua concentração é maior no FSII do que no FSI (SILVA, 1998).

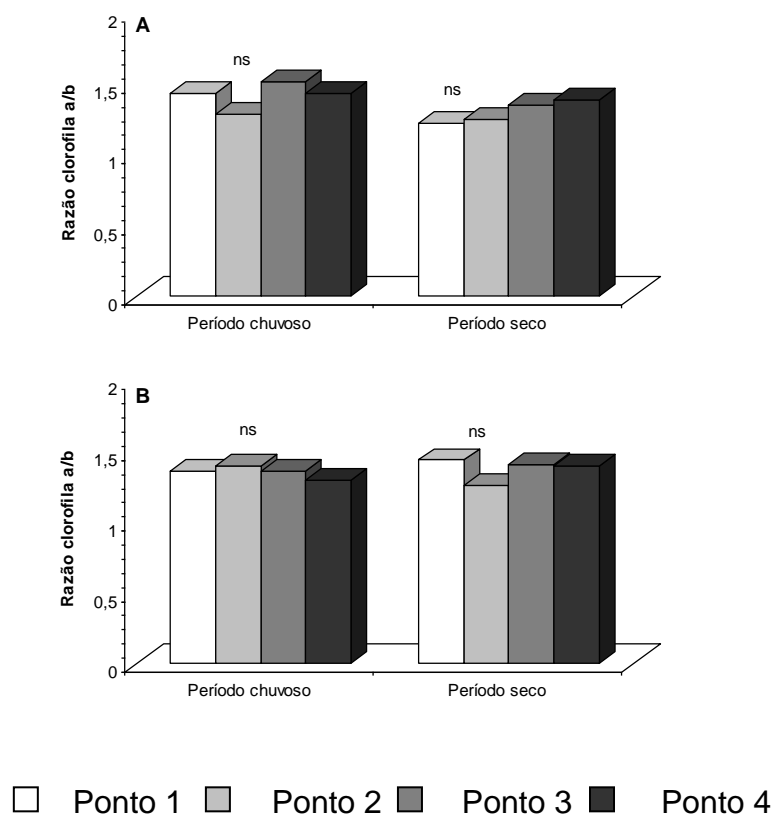


Figura 6 - Razão Clorofila *a/b* em *Rhizophora mangle* L. (A) e *Laguncularia racemosa* Gaerth. (B) nos diferentes pontos do manguezal de Vitória-ES, nos períodos chuvoso e seco de 2004. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os pontos de acordo com o teste Tukey ($P \leq 0,05$). ns não significativo. (n = 10)

Neste estudo, a razão clorofila *a/b* foi, em média, de aproximadamente 1,35 para *R. mangle* e *L. racemosa*. Seu decréscimo foi devido aos teores elevados de clorofila *b*. Elevadas concentrações de clorofila *b* são particularmente importantes porque permitem maior interceptação de energia luminosa em comprimentos de onda variados, resultando em maior transferência de energia radiante aos centros de reação dos fotossistemas (GOLÇALVES et al., 2001).

Observa-se na figura 7A que os teores de carotenóides aumentaram significativamente em *R. mangle* no ponto 2, tanto no período chuvoso quanto no período seco. Por outro lado, a variação foi significativa em *L. racemosa* entre os pontos somente durante o período de chuvas, onde houve aumento significativo na concentração deste pigmento nos pontos 2 e 4 (Figura 7B).

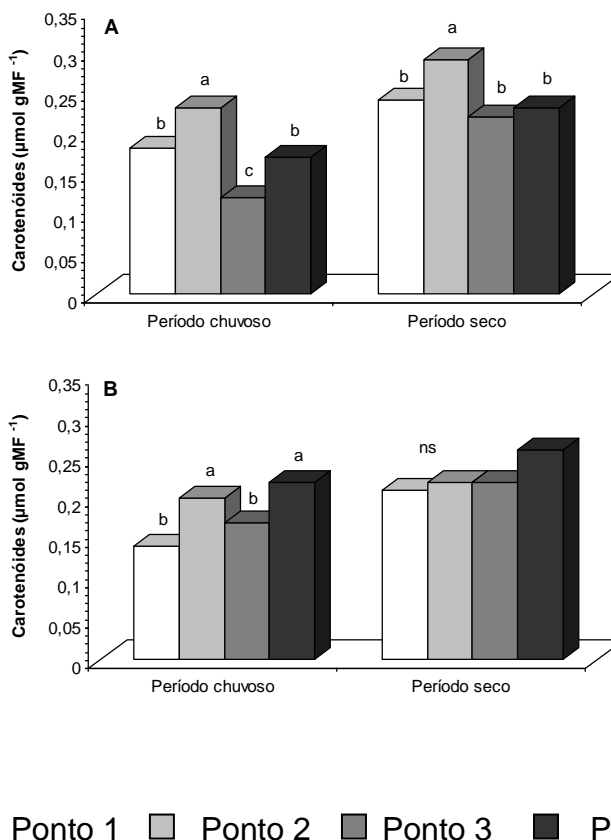


Figura 7 - Concentração de carotenóides em *Rhizophora mangle* L. (A) e *Laguncularia racemosa* Gaerth. (B) nos diferentes pontos do manguezal de Vitória-ES, nos períodos chuvoso e seco de 2004. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os pontos de acordo com o teste Tukey ($P \leq 0,05$). ns não significativo. (n = 10)

Os carotenóides têm papel importante na captação de luz e na fotoproteção dos pigmentos dos cloroplastos (DEMMIG-ADAMS e ADAMS, 1996; MERZLYAK e SOLOVCHENKO, 2002). Os maiores teores de carotenóides em *R. mangle* e *L. racemosa* encontrados no ponto 2 podem estar indicando um mecanismo de defesa da planta contra os efeitos de elevadas concentrações de poluentes no ambiente.

De importância particular é o papel desses pigmentos na proteção do aparelho fotossintético contra danos fotoinibitórios acoplados à dissipação da energia térmica e à formação do O₂ singleto no centro de reação do FSII (SILVA, 1998; GONÇALVES et al., 2001; MERZLYAK e SOLOVCHENKO, 2002; BURNS et al., 2003). O aumento nos teores desses pigmentos em *L. racemosa* no ponto 4, durante o período chuvoso, pode ser um mecanismo protetor contra elevados níveis de salinidade e hipoxia.

Sob excesso de energia luminosa, a violaxantina é convertida rapidamente em zeaxantina, liberando na forma de calor o excesso de energia que chega aos fotossistemas (DEMMIG-ADAMS e ADAMS, 1996; LU et al., 2002).

Quando se compara o conteúdo de carotenóides entre o período chuvoso e o período seco, observa-se que houve um aumento na síntese desse pigmento acessório em todos os pontos no período seco (Figura 8). Esse aumento na concentração de pigmentos carotenóides durante o período seco confere maior proteção às membranas fotossintéticas contra os efeitos do aumento da concentração salina, característico desse período de chuvas escassas. Como resultado, maior eficiência de captação da energia luminosa pelo FSII pode ocorrer. Os aumentos observados nas concentrações de clorofila *a* e *b* e de pigmentos carotenóides neste estudo podem representar respostas fisiológicas das plantas avaliadas a fatores abióticos, como a salinidade, condições de alagamento durante intervalos de maré alta e a ação de poluentes de origem antrópica lançados no ecossistema, os quais, potencialmente, alteram a disponibilidade de nutrientes para as plantas. Este estudo indica o uso potencial dessas características fisiológicas como indicadoras de estresse.

Além disso, as variações nos teores de clorofila *a* e *b* refletiram diretamente nos valores da razão clorofila *a/b*, que, segundo Gonçalves et al. (2001) e Macfarlane e Burchett (2001) constituem um bom indicador de alterações ambientais.

A similaridade de respostas entre *R. mangle* e *L. racemosa* aos fatores do ambiente demonstraram claramente o elevado grau de adaptação dessas espécies a seu restrito nicho ecológico por meio, provavelmente, da aquisição de

adaptações morfológicas e fisiológicas comuns em processos de evolução convergentes e partilhados (DUKE et al., 2000; DUKE e WATKINSON, 2002).

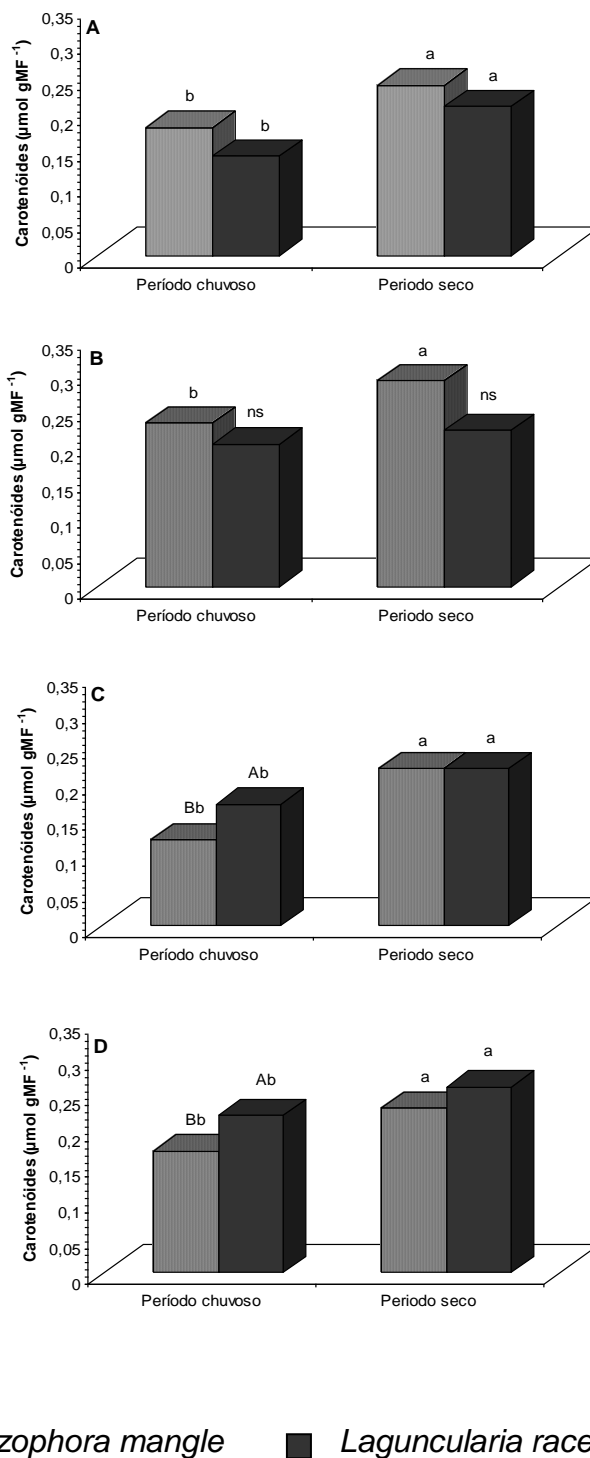


Figura 8 - Concentração de carotenóides em *Rhizophora mangle* L. e *Laguncularia racemosa* Gaerth. nos diferentes pontos do manguezal de Vitória-ES, nos períodos chuvoso e seco de 2004. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa entre as espécies e letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa de cada espécie entre os períodos de acordo com o teste Tukey ($P \leq 0,05$). ns não significativo. (n = 10)

4. REFERÊNCIAS

ARNON, D.I. Copper enzymes in isolated chloroplast. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, v.24, n.1, p.1-15, 1949.

AWADA, M.; LONG, C. The selection of the phosphorus index in papaya tissue analyses. **Pro ASHS**, v.94, n.5,p.501-504, 1969.

BALAKRISHNAN, K.; RAJENDRAN, C.; KULANDAIVELU, G. Differential responses of iron, magnesium, and zinc deficiency on pigment composition, nutrient content, and photosynthetic activity in tropical fruit crops. **Photosynthetica**, v.38, n.3, p.477-479, 2000.

BELL, A. M.; DUKE, N. C. Effects of photosystem II inhibiting herbicides on mangroves – preliminary toxicology trials. **Marine Pollution Bulletin**, 2004 (no prelo).

BEHERA R.K.; CHOUDHURY N.K. High irradiance induced pigment degradation and loss of photochemical activity of wheat chloroplasts. **Biologia Plantarum**. v.45, p.45-49, 2002.

BURNS, J.; FRASER, P. D.; BRAMLEY, P. M. Identification and quantification of carotenoids, tocopherols and chlorophyll in commonly consumed fruits and vegetables. **Phytochemistry**, v.62, p.939-947, 2003.

CAI, G. H., Salt relations of mangroves along Northeast Hainan Coastal. In: LI, M. S. Nutrient dynamics of a futian mangrove forest in Shenzhen, South China. **Estuarine, coastal and Shelf Science**, v.45, p.463-472, 1997.

CARMO, T. M. S.; BRITO-ABAURRE, M. G.; MELO, R. M. S.; ZANOTTI-XAVIER, S.; COSTA, M. B.; HORTA, M. M. M. Os manguezais da baía norte de Vitória, Espírito Santo: um ecossistema ameaçado. **Revista Brasileira de Botânica**, v.55, n.4, p.801-818, 1995.

CARNICAS, E.; JIMÉNEZ, C.; NIELL, F. X. Effects of changes of irradiance on the pigment composition of *Gracilaria tenuistipitata* var. *liui* Zhang et Xia. **Journal Photochemical Photobiology**, v.50, p.149-158, 1999.

DEMMIG-ADAMS, B.; ADAMS, W. W. The role of xanthophylls cycle carotenoids in the protection of photosynthesis. **Trends in Plant Science**. v.1, n.1, p.21-26, 1996.

DUKE, N. C.; BALL, M. C.; ELLISON, J. C. Factors influencing biodiversity and distributional gradients in mangroves. **Global Ecology and Biogeography**, v.7, p.27-47, 1998.

DUKE, N. C.; BURNS, K. A.; SWANNELL, R. P. J.; DALHAUS, O.; RUPP, R.J. Dispersant use and a bioremediation strategy as alternate means of reducing the large oils spills on mangrove biota in Australia: the Gladstone field trials. **Marine Pollution Bulletin**, v.41, p.403-412, 2000.

DUKE, N. C.; WATKINSON, A. J. Chlorophyll-deficient propagules of *Avicennia marina* and apparent longer term deterioration of mangrove fitness in oil-polluted sediments. **Marine Pollution Bulletin**, v.44, p. 1269-1276, 2002.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Serviço Nacional de Levantamento de Conservação de Solos. **Manual de métodos de análise de solo**. Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura, 1979, não paginado.

FALKOWSKI, P. G.; RAVEN, J. A. **Aquatic Photosynthesis**. Blackwell, UK, 1997.

FERNANDES, V. O. **Variação temporal da estrutura e dinâmica da comunidade perifítica em dois tipos de substratos na Lagoa Imbossica, Macaé (RJ)**. 1997. 198p. Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais) – Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.

GONÇALVES, J. F.; MARENCO, R. A.; VIEIRA, G. Concentration of photosynthetic pigments and chlorophyll fluorescence of mahogany and tonka bean under two light environments. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.13, n.2, p.149-157, 2001.

HALL, D. O.; RAO, K. K. **Fotossíntese**. Temas Coleção de Biologia, v.10. Editora Pedagógica e Universitária LTDA. São Paulo, 1980. 89p.

HENDRY, G. A. F.; GRIME, J. P. **Methods in Comparative Plant Ecology**. New York: Marcel Dekker, 1993, 282p.

HOLGUIN, G.; VAZQUEZ, P.; BASHAN, Y. The role of sediment microorganisms in the productivity, conservation, and rehabilitation of mangrove ecosystems: an overview. **Biology Fertility Soils**, v.33, p.265-278, 2001.

LACERDA, L. D. Trace metals biogeochemistry and diffuse pollution in mangrove ecosystems. *In*: OLIVEIRA, S. S., BRITTO, I. C., FREITAS, H. M. B. Composição química das folhas da *Rhizophora mangle* e do sedimento de manguezais não impactados e impactados por resíduos industriais. **Sitientibus**, v.1, n.23, p.35-44, 2000.

LEE, G.; CARROW, R. N.; DUNCAN, R. R. Photosynthetic responses to salinity stress of halophytic seashore paspalum ecotypes. **Plant Science**, v.166, p.1417-1425, 2004.

LI, M. S. Nutrient dynamics of a futian mangrove forest in Shenzhen, South China. **Estuarine, coastal and Shelf Science**, v.45, p.463-472, 1997.

LOTT, W. L.; NERY, J. P.; GLLO, J. R.; MEDCALF, J. C. **A técnica de análise foliar aplicada ao cafeeiro**. Boletim técnico, São Paulo, IBEC Research Institute, 1956, 40p.

LU, C.; QIU, N.; LU, Q.; WANG, B.; KUANG, T. Does salt stress lead to increased susceptibility of photosystem II to photoinhibition and changes photosynthetic pigment composition in halophyte *Suaeda salsa* grown outdoors? **Plant Science**, v.0, p.1-6, 2002.

MacFARLANE, G. R. Leaf biochemical parameters in *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh as potential biomarkers of heavy metal stress in estuarine ecosystems. **Marine Pollution Bulletin**, v.44, p.244-256, 2002.

MacFARLANE, G. R.; BURCHETT, M. D. Photosynthetic pigments and peroxidase activity as indicators of heavy metal stress in the grey mangrove, *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. **Marine Pollution Bulletin**; v.42, n.3, p.233-240, 2001.

MacFARLANE, G. R.; PULKOWNIK, A.; BURCHETT, M. D. Accumulation and distribution of heavy metals in the grey mangrove, *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh.: biological indication potential. **Environmental Pollution**, v.123, p.139-151, 2003.

MADEJÓN, P.; MARAÑÓN, T.; MURILLO, J. M.; ROBINSON, B. White poplar (*Populus alba*) as a biomonitor of trace elements in contaminated riparian forests. **Environmental Pollution**, v.132, p.145-155, 2004.

MERZLYAK, M. N.; SOLOVCHENKO, A. E. Photostability of pigments in ripening apple fruit: a possible photoprotective role of carotenoids during plant senescence. **Plant Science**, v.163, p.881-888, 2002.

NIELSEN, T.; ANDERSEN, F.O. Phosphorus dynamics during decomposition of mangrove (*Rhizophora apiculata*) leaves in sediments. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v.293, p.73-88, 2003.

PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de Estatística Experimental**. 13ed. Piracicaba: Livraria Nobel, 1990. 467p.

SARRUGE, J. R.; HAAG, H. P. **Análises químicas em plantas**. Piracicaba, ESALQ, 1974, 56p.

SILVA. D. M. Metabolismo do carbono e do nitrogênio em plantas de soja noduladas sob omissão e ressuprimento de fósforo. **1998. 117p. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) – Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.**

TAKEMURA, T.; HANAGATA, N.; SUGIHARA, K.; BABA, S.; KARUBE, I.; DUBINSKY, Z. Physiological and biochemical responses to salt stress in the mangrove, *Bruguiera gymnorhiza*. **Aquatic Botany**, v.68, p.15-28, 2000.

TEDESCO, M. J.; VOLKWEISS, S. J.; BOHNEN, H. **Análises de solo, plantas e outros materiais**. Boletim técnico, 5, Porto Alegre, UFRGS, 1985, 188p.

VANGRONSVELD, J.; CLIJSTERS, H. Toxic effects of metals. *In*: MACFARLANE, G. R., BURCHETT, M. D. Photosynthetic pigments and peroxidase activity as indicators of heavy metal stress in the grey mangrove, *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. **Marine Pollution Bulletin**, v.42, n.3, p.233-240, 2001.

VAZQUEZ, P.; HOLGUIN, G.; PUENTE, M. E.; LOPEZ-CORTES, A.; BASHAN, Y. Phosphate-solubilizing microorganisms associated with the rhizosphere of mangroves in a semiarid coastal lagoon. **Biology Fertility soil**, v.30, p.460-468, 2000.

YE, Y.; NORA, F. Y.; WONG, Y. S.; LU, C. Y. Growth and physiological responses of two mangroves species (*Bruguiera gymnorhiza* and *Kandelia candel*) to waterlogging. **Environmental and Experimental Botany**, v.49, p.209-221, 2003.

CAPÍTULO 2

EFEITOS DE ALTERAÇÕES AMBIENTAIS NO MANGUEZAL DA ILHA DE VITÓRIA-ES SOBRE A EMISSÃO DE FLUORESCENCIA DA CLOROFILA *a* EM *Rhizophora mangle* L. E *Laguncularia racemosa* GAERTH.

RESUMO

Este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar os efeitos das alterações ambientais sobre a eficiência fotossintética de plantas jovens de *Rhizophora mangle* L. e *Laguncularia racemosa* Gaerth. Os dados foram coletados durante os períodos chuvoso e seco em quatro pontos do manguezal de Vitória, ES. Os valores da fluorescência inicial foram mantidos dentro da normalidade em *L. racemosa* durante o período seco coincidindo com o aumento na absorção de ferro de zinco. A eficiência fotoquímica do fotossistema II (FSII) avaliada pela razão F_v/F_m em *L. racemosa* manteve-se elevada no período seco. Estes resultados permitem indicar um mecanismo de proteção à maquinaria fotossintética contra danos gerados pelo excesso de energia de excitação em plantas de *L. racemosa*. Durante o período chuvoso foram observados elevados valores da razão F_v/F_m no ponto 2, em ambas as espécies. Neste ponto, altamente impactado pelo lançamento de esgoto diretamente no manguezal, observou-se maior eficiência de utilização do ATP e do NADPH produzidos durante a fase fotoquímica da fotossíntese, aumento da velocidade das reações do ciclo de Calvin (F_m/F_t) e da taxa de fixação do CO_2 (T_{df}), indicando a tolerância dessas espécies às variações no ambiente e que as medidas da emissão da fluorescência da clorofila *a* podem ser boas indicadoras da qualidade ambiental.

Palavras-chave: Alterações ambientais; Fluorescência da clorofila; *Laguncularia racemosa* Gaerth.; Manguezal; *Rhizophora mangle* L.

CHAPTER 2

**EFFECTS OF ENVIRONMENTAL ALTERATIONS IN THE MANGROVE
FOREST OF ISLAND OF VITORIA-ES ON CHLOROPHYLL *a*
FLUORESCENCE EMISSION IN *Rhizophora mangle* L. AND *Laguncularia
racemosa* GAERTH.**

ABSTRACT

This research was done in order to evaluate the effects of environmental alterations on photosynthesis in *Rhizophora mangle* L. and *Laguncularia racemosa* Gaerth. young plants. The data were collected during the rain and drought periods in four points at mangrove of Vitoria, ES. The obtained results indicated that the increase in absorption of iron and zinc for *L. racemosa* during the dry period favored the reduction of initial fluorescence (F_0). Decreases F_0 indicate protection of photosynthetic machinery against damage generate by excess of energy excitation, which reflex immediately in the increase to photosystem II photochemical efficiency (PSII), F_v/F_m , in *L. racemosa* in dry period. The elevated values of F_v/F_m ratio observed in the point number 2 during the rain period, in both species, constitute good indicators in the nitrogen concentration, which reflex the degree of contamination by pollution threw away directly in the mangrove ecosystem. In the points of higher environmental pollution, has been observed higher use efficiency of ATP and NADPH (F_t) produced during the photochemical phase of photosynthesis, increased of the Calvin cycle reactions velocity (F_m/F_t) and the CO₂ fixation ratio (T_{df}) in *R. mangle* and *L. racemosa*, indicating increase to tolerance these species to environment variations through to increase of photosynthetic rate.

Keywords: Chlorophyll fluorescence; Environmental alterations; *Laguncularia racemosa* Gaerth.; Mangrove; *Rhizophora mangle* L.

1. INTRODUÇÃO

As plantas, em geral, são muito sensíveis às variações das condições físicas e químicas do meio, e, portanto, podem ser utilizadas como bioindicadoras (DOMINGOS et al., 2004; MADEJÓN et al., 2004). O termo bioindicador refere-se ao uso de um organismo, ou parte dele, para obter informações quantitativas sobre a qualidade ambiental (MacFARLANE et al., 2003; MADEJÓN et al., 2004).

Os manguezais formam comunidades únicas em regiões costeiras tropicais e subtropicais de todo o mundo (TAKEMURA, et al., 2000; LUZHEN et al., 2004), sendo encontrados de norte a sul do Estado do Espírito Santo, mas sua maior concentração é na Baía de Vitória, com 18 Km² de área (CARMO et al., 1995). Apesar de sua importância social, econômica e ecológica, o manguezal de Vitória vem sofrendo impactos das mais diversas naturezas.

Os impactos sobre a comunidade vegetal do ecossistema de manguezal podem ser determinados por meio de análises fisiológicas e bioquímicas, e refletem bem, em alguns casos, os efeitos deletérios dessas alterações ambientais (MacFARLANE, 2002). Estudos recentes sugerem que as espécies vegetais do manguezal podem ser utilizadas como bioindicadoras (MacFARLANE e BURCHETT, 2001; MacFARLANE et al., 2003).

Plântulas de *Rhizophora mangle* são bioindicadoras apropriadas e muito sensíveis às condições desfavoráveis impostas por uma refinaria de óleo situada próxima ao manguezal da Baía de Todos os Santos, Bahia, Brasil (ORGE et al., 2000). Em sítios contaminados por hidrocarbonetos oriundos dessa refinaria as plântulas de *R. mangle* mostram redução no crescimento em altura, no número de ramos laterais e no tamanho das folhas.

O baixo crescimento (“nanismo”) de indivíduos de *R. mangle* em ambientes estuarinos da Costa Sul da Flórida (U.S.A.) é atribuído às elevadas concentrações de enxofre no sedimento (FRY et al., 2000).

Elevadas concentrações de óleo no sedimento são responsáveis por mutações gênicas em propágulos de plantas do gênero *Rhizophora* e *Avicennia* em manguezais da Austrália (DUKE e WATKINSON, 2002). Uma vez que esses mutantes não produzem clorofila, são chamados de “albinos”.

A deposição de pó de carvão sobre as folhas de *Avicennia marina* em manguezais próximos ao Richards Bay Coal Terminal (RBCT), Sul da África, gerou um decréscimo na eficiência fotoquímica do fotossistema II (Fv/Fm) (NAIDOO e CHIRKOOT, 2004), evidenciando o uso dessa característica fisiológica como indicadora de estresse.

A fluorescência da clorofila *a* é utilizada como um método preciso e não destrutivo capaz de estimar a taxa de transporte de elétrons fotossintéticos e a eficiência fotoquímica dos fotossistemas (HONG e XU, 1999; BRON et al., 2004; BAKER e ROSENQVIST, 2004). Alterações na emissão da fluorescência da clorofila em organismos fotossintéticos são indicações de mudanças na atividade fotossintética e refletem os efeitos de estresses ambientais sobre o aparelho fotossintético (HONG e XU, 1999; KAO e TSAI, 1999; GONÇALVES, et al., 2001; SAYED, 2003; BAKER e ROSENQVIST, 2004; BRON et al., 2004).

Vários nutrientes minerais estão diretamente envolvidos no transporte de elétrons no fotossistema II (FSII) (MARSCHENER, 1995). Moléculas de clorofila com seu átomo de magnésio central absorvem fótons iniciando o fluxo de elétrons pelos fotossistemas. Esses elétrons que são “perdidos” pela clorofila

P_{680} do centro de reação são repostos através de reações de oxidação da água mediada por um complexo enzimático ligado ao FSII contendo manganês.

Átomos de Ferro entram na constituição de proteínas dos fotossistemas e do complexo citocromo *b₆f* (MARSCHENER, 1995; BALAKRISHANAN et al., 2000). O complexo *b₆f* funciona como uma oxidoreductase, transferindo elétrons para a plastocianina. A plastocianina é uma proteína de alta mobilidade, contendo Cobre em sua estrutura e é responsável pela transferência de elétrons do FS II em direção ao FS I (BUCHANAN et al., 2000).

O Fósforo é requerido nas reações de transferência de energia, sendo um elemento essencial na síntese de NADPH e ATP (MARSCHENER, 1995; SILVA, 1998).

O Nitrogênio, por sua vez, participa da constituição de proteínas que compõem o aparelho fotossintético e tem sido indicado como o maior fator limitante da produtividade de halófitas (CHIU et al., 1996).

O manguezal, apesar de muito produtivo, é considerado um ecossistema pobre em nutrientes minerais (LI, 1997; VAZQUEZ et al., 2000; HOLGUIN, et al., 2001; NIELSEN e ANDERSEN, 2003). A disponibilidade de nutrientes no ecossistema é garantida por um eficiente sistema de reciclagem por meio do qual nutrientes essenciais para o metabolismo das plantas ficam retidos no meio (HOLGUIN, et al., 2001).

A disponibilidade de nutrientes nos manguezais também pode sofrer influência de descargas de nutrientes oriundos do lançamento de esgoto doméstico e industrial e da atividade agrícola de propriedades rurais (GRANDE et al., 1999; HOUQUIN et al., 2001; BEHRENDT et al., 2002; COSTANZO et al., 2003; BELL e DUKE, 2004).

Porém, informações sobre os efeitos e impactos dessa entrada de nutrientes sobre a comunidade vegetal do manguezal são limitadas (CHIU et al., 1996). Sabe-se que variações na disponibilidade de nutrientes podem alterar o funcionamento do aparelho fotossintético como também induzir mudanças nas reações de assimilação do carbono durante a fase bioquímica da fotossíntese

resultando em alterações no crescimento, sobrevivência e reprodução das espécies (VANGRONSVELD e CLIJSTERS, 1994; MacFARLANE, 2002).

Baseado nesse contexto, este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos das alterações ambientais no manguezal do Município de Vitória sobre a cinética da emissão da fluorescência da clorofila *a* em plantas de *Rhizophora mangle* e *Laguncularia racemosa*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material vegetal e Condições de amostragem

Plantas jovens de *Rhizophora mangle* L. e *Laguncularia racemosa* Gaerth. com aproximadamente 500 mm de altura, foram selecionadas em quatro pontos do manguezal de Vitória, ES (Anexo A). A localização geográfica e a descrição das principais características de cada ponto são mostradas na tabela 1.

Tabela 1 - Localização geográfica e principais características dos diferentes pontos analisados no manguezal da Ilha de Vitória, ES.

Pontos	Localização	pH	Salinidade média	Descrição
1	20°15'20''S 40°18'3,4''W	7,0 ± 0,3	12,0 ± 5,6	Ilha do Lameirão, Ponto mais distante do mar
2	20°15'14''S 40°17'36''W	7,1 ± 0,3	9,0 ± 2,1	Bairro Jabour-Goiabeiras Poluição de origem antrópica
3	20°16'31''S 40°18'19''W		22,0 ± 6,6	Próximo ao Dpto. Ecologia/UFES
4	20°17'5,5''S 40°18'10''W	6,7 ± 0,2	24,0 ± 4,4	Próximo à Ponte da Passagem
		7,1 ± 0,3		

As coletas foram realizadas com base no índice de precipitação da região e os dados coletados durante os meses de março e abril de 2004 foram utilizados para caracterizar o comportamento ecofisiológico dessas espécies no período de chuvas, enquanto os resultados obtidos nos meses de julho e agosto do mesmo ano caracterizaram o período seco da região.

Os índices de precipitação foram em média de 171 mm no período de chuvas e de 63 mm no período seco. A média de temperatura mínima e máxima foi de 22 e 30°C no período de chuvas e 19 e 26°C no período seco, respectivamente. Todas as medidas foram feitas nas primeiras horas do dia (6:30 a 8:00 horas), no campo, durante intervalos de maré baixa (aproximadamente 0,1m de altura).

2.2. Análise química de solo

Aproximadamente 500 mg de sedimento da rizosfera das plantas analisadas foram coletados, secos em estufa com circulação forçada de ar a 75°C (AWADA e LONG, 1969) e analisados quimicamente para P, K, Ca, Mg, S, Fe, Zn, Cu e Mn e matéria orgânica (MO) de acordo com os métodos descritos por Tedesco et al. (1985).

O P e o K foram extraídos com uma solução de HCl 0,05 N + H₂SO₄ 0,025 N e determinados por colorimetria e espectrofotometria de chama, respectivamente; o Ca e o Mg extraídos com KCl 1 N, sendo determinados por titulação com EDTA; o S foi extraído com HCl pelo método gravimétrico; os micronutrientes Fe, Cu, Mn e Zn foram extraídos com HCl 0,1 N e determinados por espectrofotometria de absorção atômica; a porcentagem de matéria orgânica foi determinada após extração do carbono orgânico com bicromato de potássio e titulação com sulfato ferroso, multiplicando-se o resultado por 1,724 (EMBRAPA, 1979).

2.3. Análise química foliar

As amostras foliares foram constituídas de aproximadamente 50 folhas adultas e verdes do terceiro par de folhas completamente expandidas. As amostras foram acondicionadas em saco de papel, para secagem em estufa com circulação forçada de ar a 75°C (AWADA e LONG, 1969) e analisadas quimicamente para N, P, K, Ca, Mg, S, Fe, Zn, Cu e Mn de acordo com os métodos descritos por Lott et al. (1956) e Sarruge e Haag (1974).

O N foi extraído com ácido sulfúrico e determinado por espectrofotometria com solução de indofenol; os nutrientes P, K, Ca, Mg, S, Fe, Cu, Mn e Zn foram submetidos à digestão nítrico-perclórica sendo as determinações do P feitas por colorimetria, K por espectrofotometria de chama e os demais nutrientes por espectrofotometria de absorção atômica.

2.4. Medidas Fotossintéticas

A cinética da emissão da fluorescência da clorofila *a* foi medida no segundo par de folhas completamente expandidas, *in locu*, entre 7:00 e 8:00 horas da manhã, pelo uso de um fluorômetro portátil *Handy-PEA* (Hanstech, King's Lynn, Norkfolk, UK), que determina as características da fluorescência rápida - fluorescência inicial (F_o), fluorescência máxima (F_m), fluorescência variável (F_v), eficiência fotoquímica do fotossistema II (F_v/F_m) - e da fluorescência lenta - fluorescência terminal (F_t]. Após 30 minutos de adaptação ao escuro, cada disco foliar foi exposto a um pulso de saturação de intensidade luminosa igual a $700 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ durante 180 segundos.

Obtidos os valores de F_m e F_t , foram calculadas a razão F_m/F_t e a taxa de declínio da fluorescência (T_{df}) utilizando a fórmula descrita por Almeida e Maestri (1996):

$$T_{df} = (F_m - F_t) / F_t$$

2.5. Análise Estatística

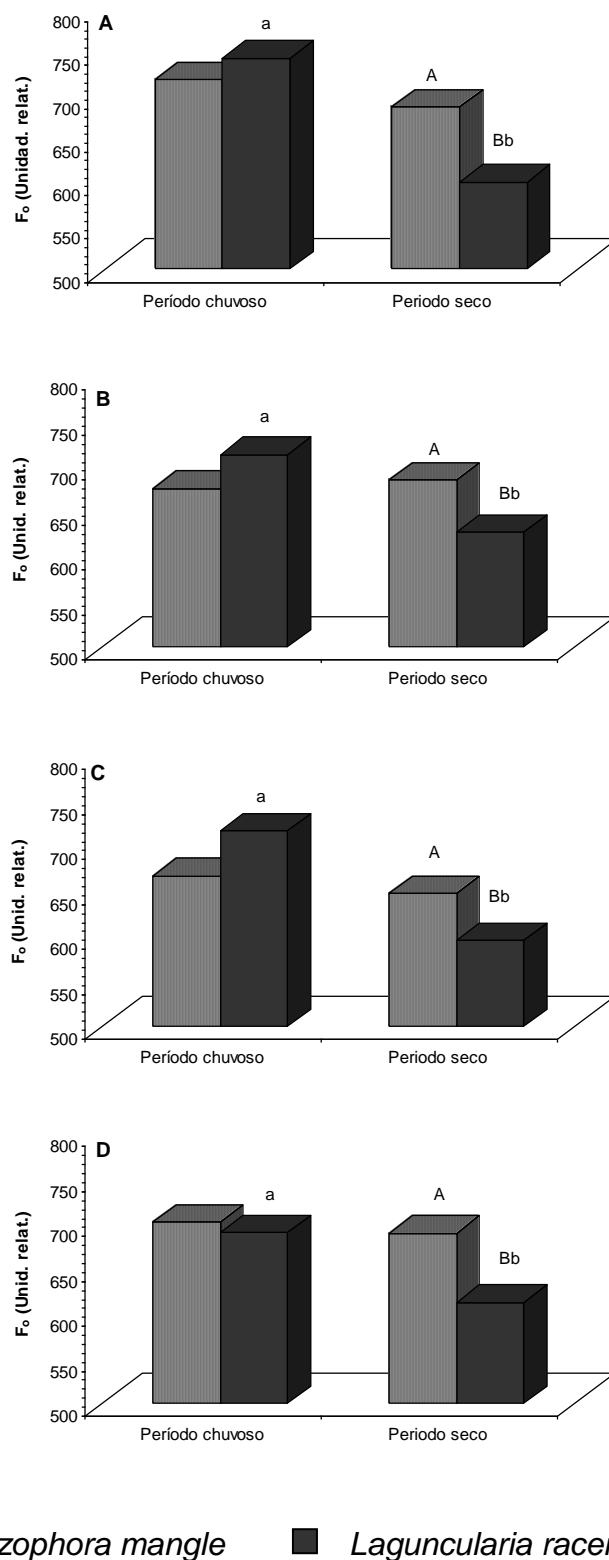
Em cada um dos quatro pontos analisados neste trabalho, foram avaliadas 10 plantas de cada espécie, de acordo com um delineamento experimental de blocos casualizados em esquema fatorial (2 x 2 x 4), representando duas espécies, dois períodos de precipitação (períodos chuvoso e seco) e quatro pontos de coleta. Os dados foram submetidos a uma análise de variância e, quando os valores de F foram significativos, comparações de médias foram realizadas, usando-se o teste Tukey, ao nível de 5% de probabilidade (PIMENTEL-GOMES, 1990)

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De um modo geral, não houve alterações na fluorescência inicial (F_0) em *Rhizophora mangle* no dois períodos avaliados (Figura 1). Em *Laguncularia racemosa*, somente no período chuvoso as plantas apresentaram a fluorescência inicial mais elevada (Figura 1A, 1B e 1C).

É consenso universal considerar que a fluorescência inicial é obtida quando os centros de reação do fotossistema II (FSII) encontram-se “abertos”, o que significa dizer que o acceptor primário de elétrons, Quinona A (Q_A), está completamente oxidado (BAKER e ROSENQVIST, 2004). Alterações na intensidade da fluorescência inicial podem ser provocadas pela heterogeneidade do FSII, pelo deslocamento de polipeptídeos do sistema antena do FSII ou ainda pelo acoplamento ao FSI. Processos que alteram os centros de reação do FSII (ativando-os ou inativando-os) correlacionados à síntese e degradação do polipeptídeo D_1 também podem provocar estas modificações (HONG e XU, 1999). As condições ambientais onde a planta está se desenvolvendo podem, direta ou indiretamente, provocar mudanças das características de indução da fluorescência por alterar o “pool” metabólico associado ao metabolismo fotossintético (XU e WU, 1996; BAKER e ROSENQVIST, 2004).

Observa-se na Figura 2 que os teores de Ferro e Zinco nos tecidos foliares de *L. racemosa* foram maiores do que em *R. mangle*, porém a disponibilidade deste micronutrientes nos sedimentos analisados (Figuras 3 e 4) indica um mecanismo seletivo de absorção. Resultados controversos da nutrição mineral têm sido obtidos com plantas do ecossistema manguezal. Em *Aegiceras corniculatum*, crescidas em manguezais da Costa Nordeste de Hainan na China, os teores de nutrientes são determinados pela sua abundância no solo (CAI, 1987 apud LI, 1997). Também em *Kandelia candel*, dos manguezais de Shenzhen no Sul da China, os resultados são semelhantes, sendo que essas plantas absorvem seletivamente os nutrientes (LI, 1997).



▨ *Rhizophora mangle* ■ *Laguncularia racemosa*

Figura 1 - Fluorescência inicial (F_0) em plantas de *Rhizophora mangle* L. e *Laguncularia racemosa* Gaerth. no ponto 1 (A), ponto 2 (B), ponto 3 (C) e ponto 4 (D) do manguezal de Vitória-ES, nos períodos chuvoso e seco. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa entre as espécies e letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa de cada espécie entre os períodos de acordo com o teste Tukey ($P \leq 0,05$). ns não significativo. (n = 10)

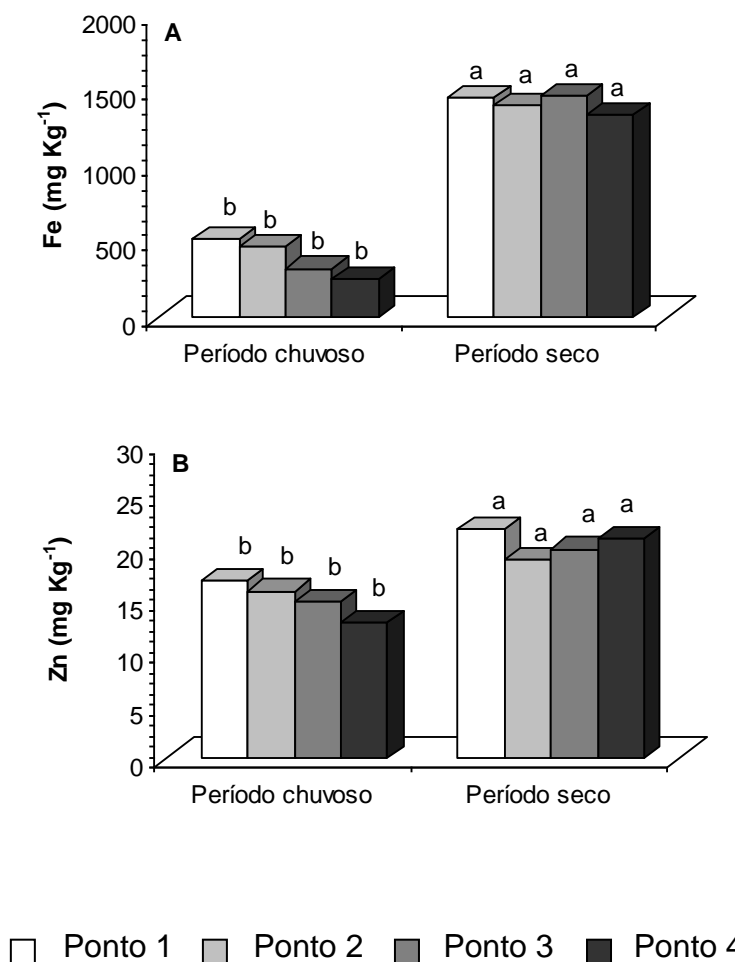


Figura 2 - Concentração de ferro (A) e zinco (B) nos tecidos foliares de *Laguncularia racemosa* Gaerth. em diferentes pontos do manguezal de Vitória-ES, nos períodos chuvoso e seco de 2004. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os períodos para cada nutriente de acordo com o teste Tukey ($P \leq 0,05$). ns não significativo.

Neste estudo, a maior absorção de ferro e zinco por *L. racemosa* pode estar relacionada com o mecanismo de regulação da entrada de sal nesta espécie. Ao contrário das espécies que regulam a entrada de sal impedindo sua absorção pelas raízes (mecanismo de “exclusão”), *L. racemosa* o excreta por meio de glândulas nas superfícies foliares (mecanismo de “excreção”) (HOGARTH, 1999). Portanto, suas raízes não são hábeis em impedir o influxo de sal, sugerindo que *L. racemosa* absorveu ferro e zinco da mesma forma que absorve sem seletividade o NaCl, estando, portanto, sujeita ao acúmulo interno desses íons (BELL e DUKE, 2004).

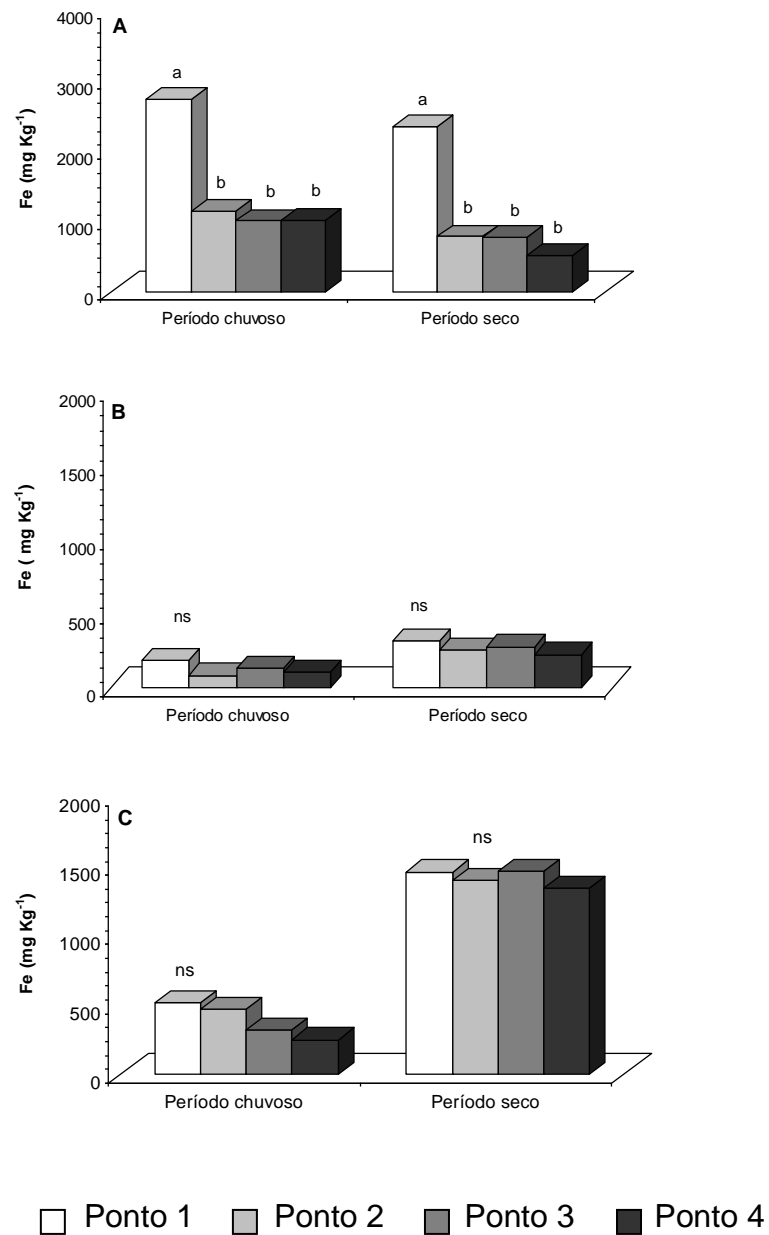


Figura 3 - Concentração de ferro no sedimento (A) e nas plantas de *Rhizophora mangle* L. (B) e *Laguncularia racemosa* Gaerth. (C) em diferentes pontos do manguezal de Vitória-ES, nos períodos chuvoso e seco de 2004. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os pontos para cada nutriente de acordo com o teste Tukey ($P \leq 0,05$). ns não significativo

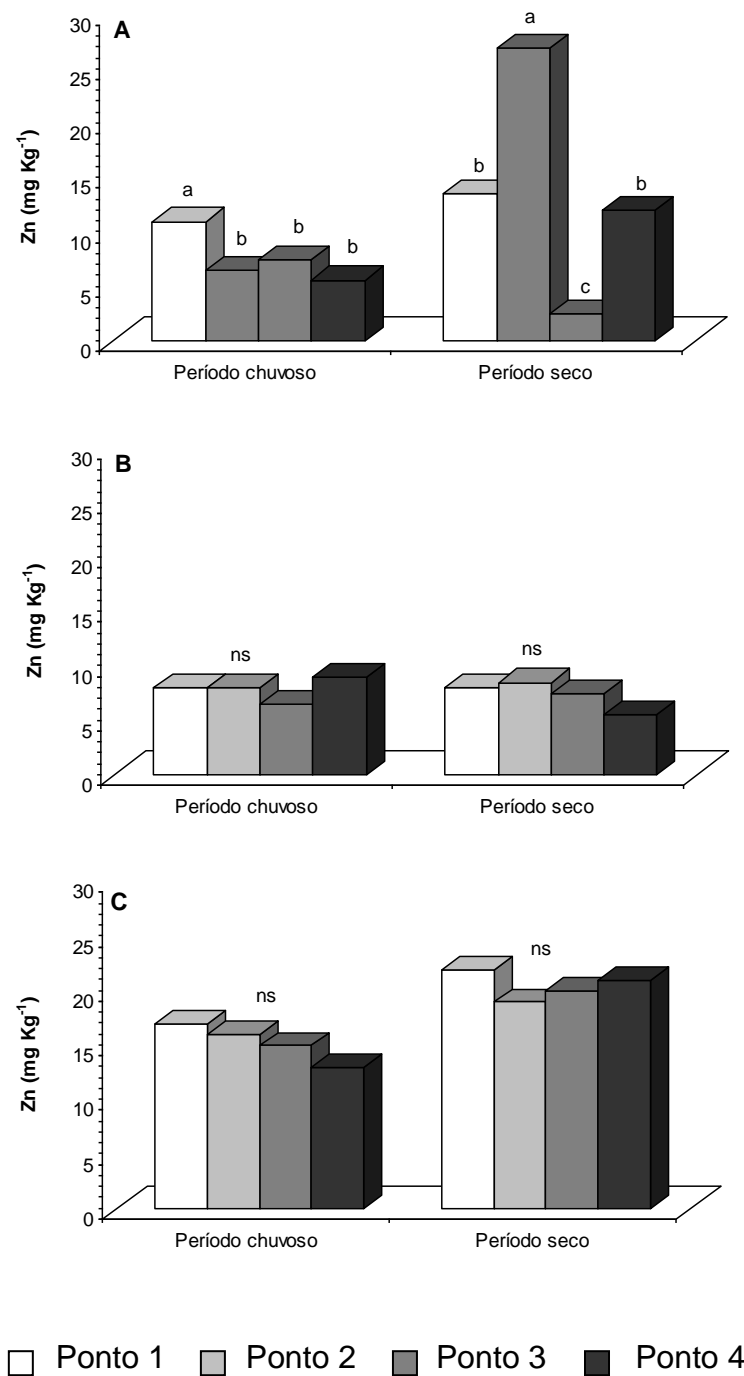


Figura 4 - Concentração de zinco no sedimento (A) e nas plantas de *Rhizophora mangle* L. (B) e *Laguncularia racemosa* Gaerth. (C) em diferentes pontos do manguezal de Vitória-ES, nos períodos chuvoso e seco de 2004. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os pontos para cada nutriente de acordo com o teste Tukey ($P \leq 0,05$). ns não significativo.

O aparelho fotossintético representa um dos sistemas celulares mais enriquecidos por íons ferro (IVANOV et al., 2000). A constituição do complexo citocromo *b₆f* e de proteínas dos fotossistemas é altamente influenciada pela disponibilidade desse micronutriente (BALAKRISHANAN et al., 2000). Reduções na disponibilidade de ferro aumentam a emissão da fluorescência inicial da clorofila em *Rhodella violacea* (alga vermelha unicelular) em condições controladas (DOAN et al., 2003), mostrando que o aumento na disponibilidade desse micronutriente nos tecidos foliares de *L. racemosa* pode ter contribuído para o decréscimo dos valores da fluorescência inicial.

O zinco é um componente estrutural dos ribossomos e essencial para sua integridade estrutural (MARSCHENER, 1995). Neste estudo, maiores teores de zinco podem ter gerado aumento na síntese protéica em *L. racemosa*, conferindo maior proteção aos fotopigmentos, ligados a complexos proteína-clorofila na membrana dos cloroplastos (BUCHANAN et al., 2000) e às membranas fotossintéticas. Dessa forma, condições propícias ao estabelecimento do fluxo de elétrons pelos fotossistemas podem ter ocorrido em *L. racemosa* causando redução da fluorescência inicial.

Diferentemente da fluorescência inicial, a fluorescência máxima (F_m) variou tanto em *R. mangle* quanto em *L. racemosa* nos quatro pontos analisados durante o período de chuvas (Figura 5).

Uma vez que a fluorescência máxima corresponde ao nível de fluorescência obtido quando os centros de reação do fotossistema II (FSII) estão em estado “fechado” (BAKER e ROSENQVIST, 2004), ou seja, hábeis em permitir a passagem de apenas uma porção dos elétrons excitados pela luz (BRON et al., 2004), reduções nos valores da fluorescência máxima podem estar indicando proteção do aparato fotossintético contra o excesso de energia de excitação por meio do fechamento dos centros de reação do FSII (POSPISIL, 1997; CAMPBELL et al., 2003).

O excesso de energia de excitação é liberado na forma de calor pelo sistema antena do FSII, processo conhecido como “*quenching não-fotoquímico*” (GONÇALVES et al., 2001; BRON et al., 2004; BAKER e ROSENQVIST, 2004).

O *quenching não-fotoquímico* constitui o principal componente gerador do declínio da fluorescência (KRAUSE e WEIS, 1988).

Rhizophora mangle mostrou valores de F_m reduzidos nos pontos 2 e 3 e *L. racemosa*, nos pontos 1, 3 e 4 (Figura 5), indicando que *L. racemosa* tem maior tolerância às variações do ambiente, uma vez que na maioria dos pontos analisados mostrou maior adaptação em liberar o excesso de energia de excitação prejudicial ao aparato fotossintético.

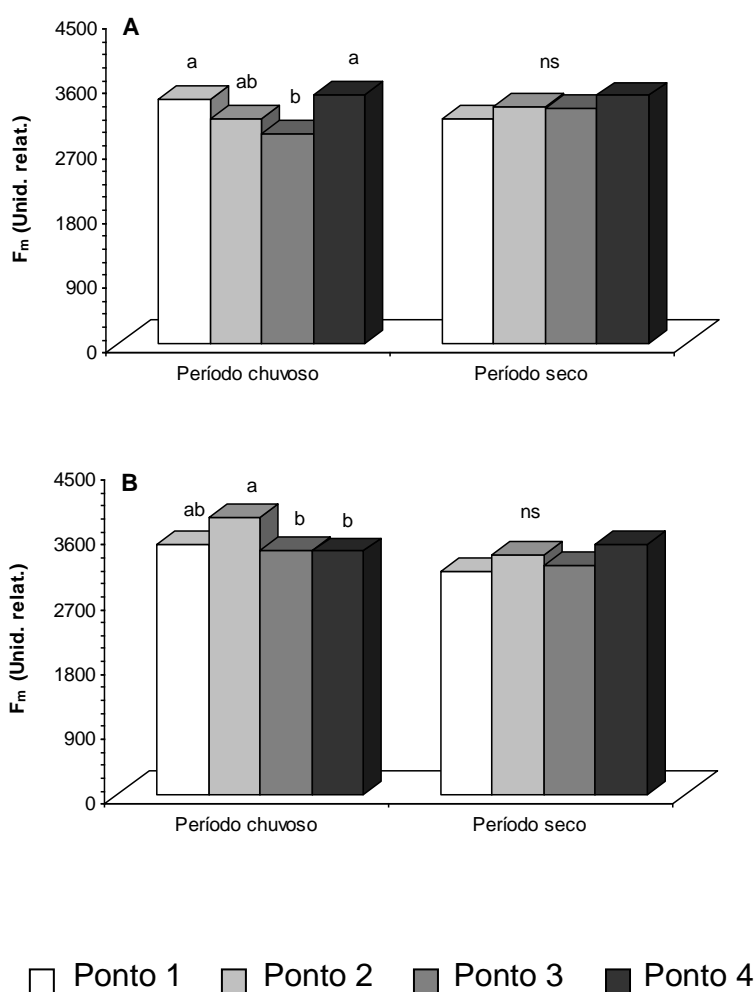


Figura 5 - Fluorescência máxima (F_m) em *Rhizophora mangle* L. (A) e *Laguncularia racemosa* Gaerth. (B) em diferentes pontos do manguezal de Vitória-ES, nos períodos chuvoso e seco de 2004. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os pontos de acordo com o teste Tukey ($P \leq 0,05$). ns não significativo. ($n = 10$)

Por outro lado, a invariabilidade de F_m no período seco, em ambas as espécies, pode estar relacionada à constância na distribuição de energia no complexo coletor de luz e à capacidade das moléculas de clorofila dos centros de reação em absorver energia radiante (SILVA, 1998). Este resultado permite inferir que a distribuição de energia entre os complexos coletores de luz do fotossistema II, os centros de reação e o acceptor final do fotossistema II em *R. mangle* e *L. racemosa* durante o período seco não foi afetada.

A eficiência fotoquímica do fotossistema II (FS II), representada pela razão fluorescência variável:fluorescência máxima (F_v/F_m) variou no período de chuvas tanto para *R. mangle* quanto para *L. racemosa*. Neste período, em ambas as espécies, a razão F_v/F_m foi maior no ponto 2 (Figura 6).

Estas variações na eficiência fotoquímica em *R. mangle* e em *L. racemosa* refletiram as concentrações de nitrogênio nos tecidos foliares dessas espécies. (Figura 7).

O nitrogênio é um macronutriente muito importante para o processo fotossintético nos vegetais, uma vez que participa da constituição de proteínas que compõem o aparelho fotossintético. Em muitas espécies vegetais, há forte correlação entre a concentração de nitrogênio foliar e a assimilação de CO_2 em alta irradiância (BAKER e ROSENQVIST, 2004). A maior produtividade de espécies vegetais do manguezal parece ser induzida pelo suprimento adicional de nitrogênio (CHIU et al., 1996).

A despeito da sua elevada produtividade, o ecossistema de manguezal é pobre em nutrientes (LI, 1997; VAZQUEZ et al., 2000; HOLGUIN, et al., 2001; NIELSEN e 2001; BEHRENDT et al., 2002; COSTANZO et al., 2003; BELL e DUKE, 2004).

Herbicidas inibem o processo fotossintético em plântulas de *Rhizophora stylosa*, *Ceriops australis*, *Avicennia marina*, *Aegiceras corniculatum*, *A. corniculatum* e *C. australis* por bloquearem o fluxo de elétrons da Q_A em direção à Q_B (BELL e DUKE, 2004).

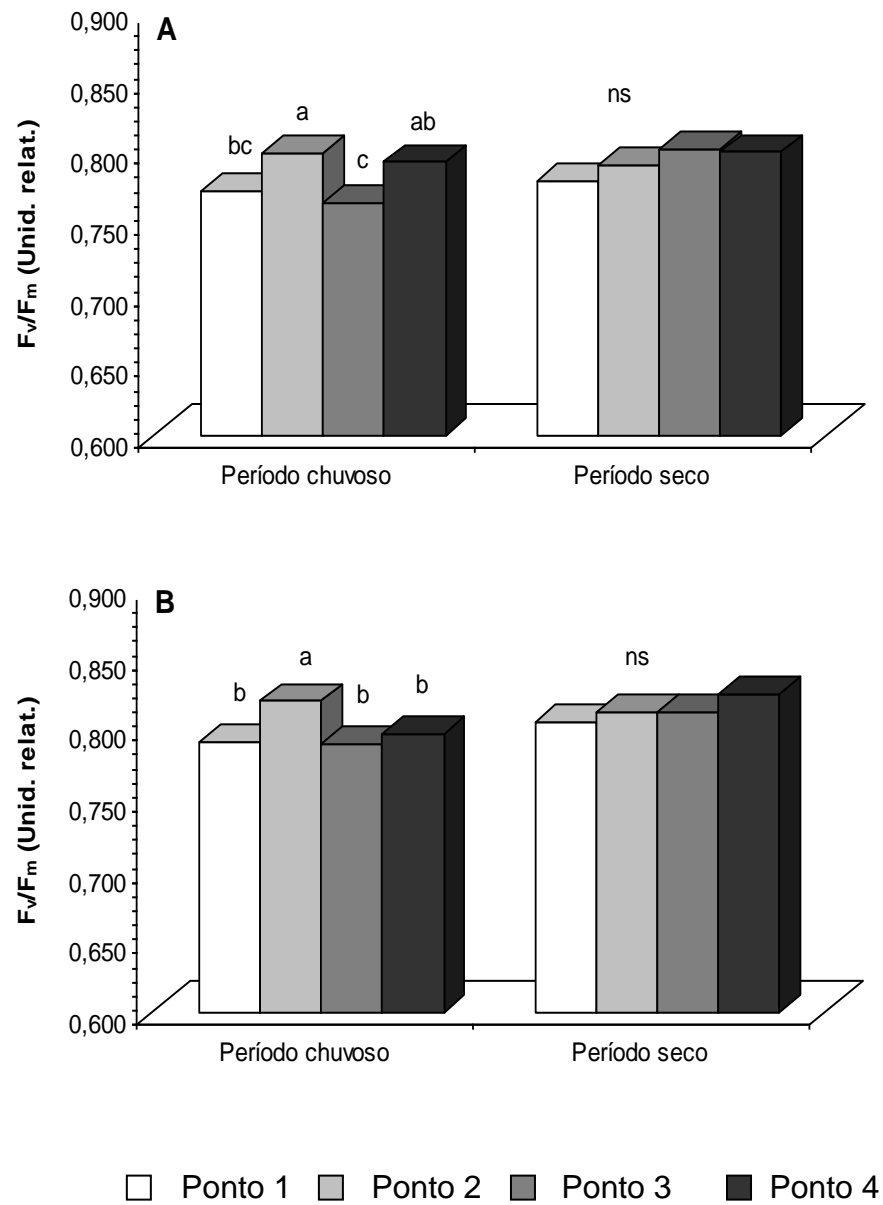


Figura 6 - Eficiência fotoquímica do fotossistema II (F_v/F_m) em *Rhizophora mangle* L. (A) e *Laguncularia racemosa* Gaerth. (B) em diferentes pontos do manguezal de Vitória-ES, nos períodos chuvoso e seco de 2004. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os pontos de acordo com o teste Tukey ($P \leq 0,05$). ns não significativo. (n = 10)

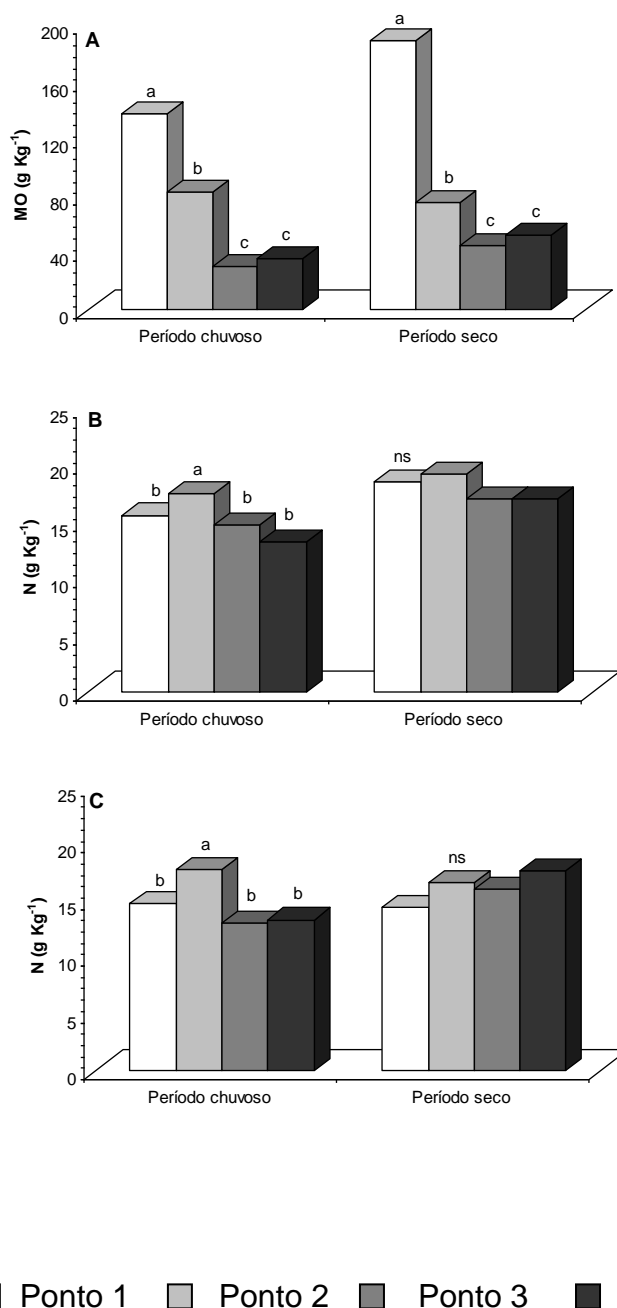


Figura 7 - Concentração de matéria orgânica (MO) no sedimento (A) e teores de nitrogênio nas plantas de *Rhizophora mangle* L. (B) e *Laguncularia racemosa* Gaerth. (C) em diferentes pontos do manguezal de Vitória-ES, nos períodos chuvoso e seco de 2004. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os pontos para cada nutriente de acordo com o teste Tukey ($P \leq 0,05$). ns não significativo

Dessa forma, os elevados valores da razão F_v/F_m observados em *R. mangle* e em *L. racemosa* no ponto 2, durante o período de chuvas, constituem bons indicativos da concentração de nitrogênio absorvido por estas espécies.

No ponto 2, durante o período de chuvas, a concentração de potássio foi significativamente maior nos tecidos foliares de *L. racemosa* (Figura 8).

Cátions, como o potássio, desempenham um importante papel na ecofisiologia das plantas. Em plantas de mangue, íons potássio são responsáveis pelo desenvolvimento de tolerância ao sal (COHEN et al., 1999). Além disso, o fluxo de prótons através das membranas dos tilacóides e o conseqüente estabelecimento de um gradiente de pH necessário para a síntese de ATP são garantidos por um suprimento adequado de íons potássio (MARSCHENER, 1995). Neste estudo, a maior concentração deste íon nos tecidos foliares de *L. racemosa* no ponto 2, provavelmente, contribuiu para o aumento da eficiência de captação da energia luminosa.

Quando se comparou *R. mangle* e *L. racemosa* nos diferentes pontos do manguezal observou-se diferença significativa na razão F_v/F_m entre a maioria deles (Figura 9). Em todos os casos, entretanto, estas diferenças apontaram para maior eficiência fotoquímica do fotossistema II para *L. racemosa*. Falqueto e Silva (2004), analisando a eficiência fotossintética de plantas adultas de *R. mangle* e *L. racemosa* no manguezal da Ilha de Vitória, determinaram valores de F_v/F_m mais elevados em *L. racemosa* do que em *R. mangle* nas mesmas condições, inferindo que *L. racemosa* é melhor adaptada aos diferentes fatores estressantes do ambiente, tais como a exposição a poluentes de origem doméstica e industrial.

Os valores da razão F_v/F_m expressam a eficiência de captura da energia de excitação pelos centros de reação abertos do fotossistema II (FSII) (BACARIN e MOSQUIM, 2002) ou, em outras palavras, indicam a eficiência fisiológica da maquinaria fotossintética (GONÇALVES et al., 2001) e a atividade dos cloroplastos (BACARIN e MOSQUIM, 2002; SAYED, 2003; BRON et al., 2004), sendo usados como um indicador

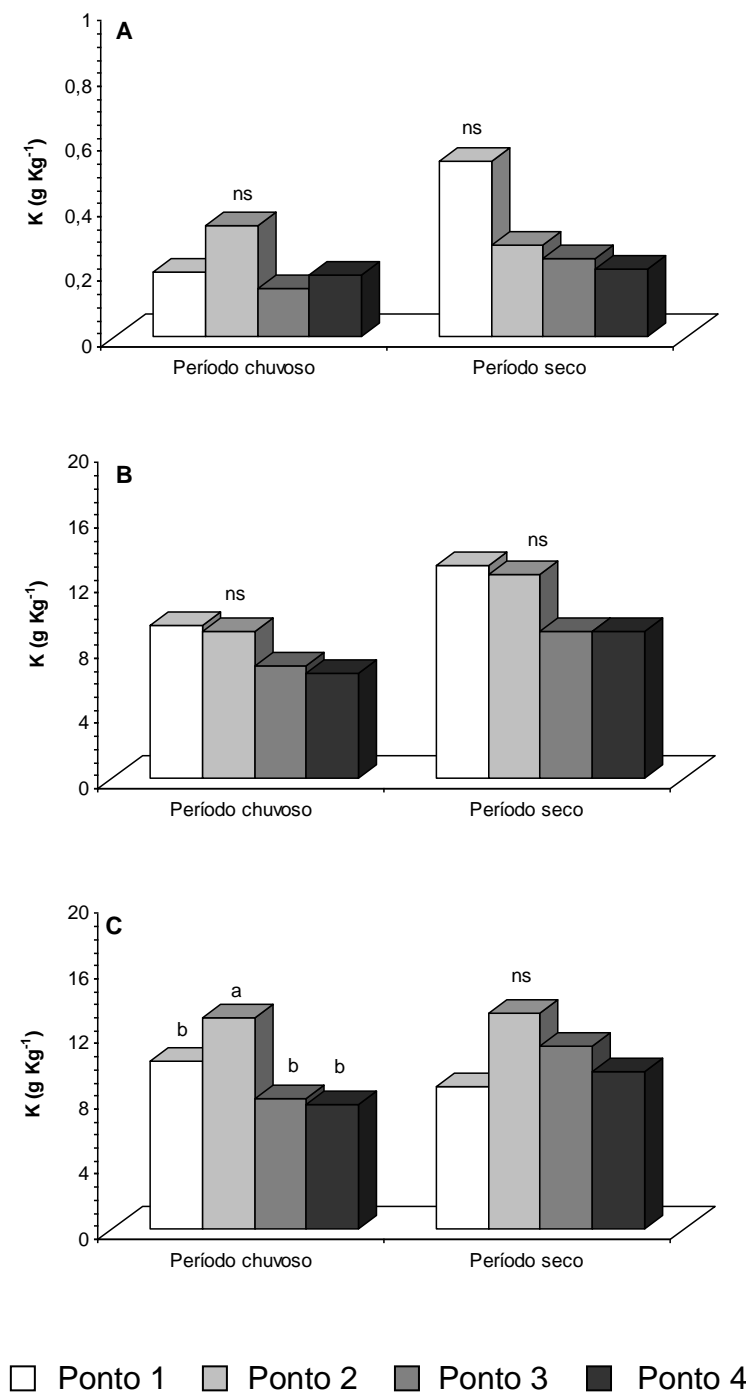


Figura 8 - Concentração de potássio no sedimento (A) e nas plantas de *Rhizophora mangle* L. (B) e *Laguncularia racemosa* Gaerth. (C) em diferentes pontos do manguezal de Vitória-ES, nos períodos chuvoso e seco de 2004. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os pontos para cada nutriente de acordo com o teste Tukey ($P \leq 0,05$). ns não significativo

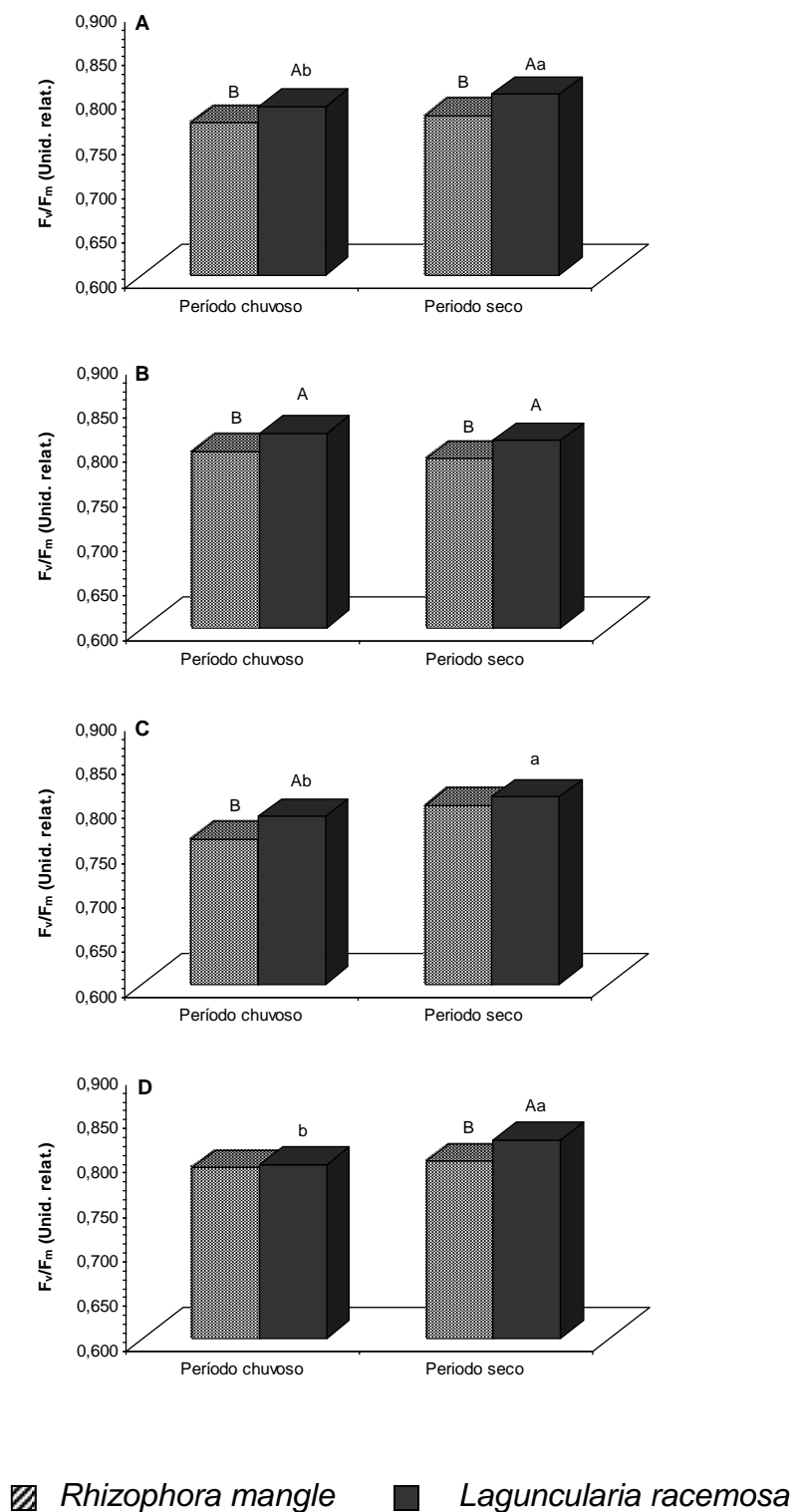


Figura 9 - Eficiência fotoquímica do fotossistema II (F_v/F_m), em *Rhizophora mangle* L. (A) e *Laguncularia racemosa* Gaerth. (B) em diferentes pontos do manguezal de Vitória-ES, nos períodos chuvoso e seco de 2004. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa entre as espécies e letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa de cada espécie entre os períodos de acordo com o teste Tukey ($P \leq 0,05$). ns não significativo. (n = 10)

muito sensível do desempenho fotossintético (SHIRKE e PATHRE, 2003). Em um amplo número de espécies vegetais, valores em torno de 0,80 – 0,83 são obtidos em folhas sem sintomas de fotoinibição crônica (SOBRADO, 1999; SHIRKE, 2001; OLIVEIRA e PEÑUELAS, 2002; SHIRKE e PATHRE, 2003), embora sejam normais valores entre 0,75 – 0,85 (BELL e DUKE, 2004).

Neste estudo, os valores dessa razão permaneceram muito próximos de 0,80 em todos os pontos, nos dois períodos analisados, indicando que, independentemente das diferenças na disponibilidade e absorção de nutrientes minerais, e, da influência direta ou indireta de outros fatores abióticos, a eficiência do sistema fotossintético em *R. mangle* e em *L. racemosa* permaneceu alta, mostrando que estas espécies apresentam um alto grau de adaptação ao meio onde vivem.

Em relação à fluorescência lenta, ocorreu variação significativa nos parâmetros analisados (F_t , F_m/F_t e T_{df}) durante o período de chuvas.

A fluorescência terminal (F_t) foi significativamente maior no ponto 1 e menor nos demais pontos para ambas as espécies (Figura 10).

Por definição, F_t é o nível de fluorescência correspondente ao estado estacionário das reações fotossintéticas (ALMEIDA e MAESTRI, 1996; BACARIN e MOSQUIM, 2002; SAYED, 2003). Valores elevados da fluorescência terminal significam decréscimo na eficiência bioquímica em utilizar o ATP e o NADPH produzidos na fase fotoquímica (SILVA, 1998).

A razão F_m/F_t e a taxa de declínio da fluorescência (T_{df}) foram significativamente maiores nos pontos 2 e 4 (Figuras 11 e 12).

A razão F_m/F_t pode ser considerada como medida da energia radiante absorvida na fotossíntese (ALMEIDA e MAESTRI, 1996) e constitui bom indicativo da velocidade do ciclo de Calvin (SILVA, 1998), enquanto a taxa de declínio da fluorescência (T_{df}) reflete a atividade fotossintética potencial da folha (SILVA, 1998) e relaciona-se à capacidade de fixação de CO_2 (SAYED, 2003).

A análise desses parâmetros em *R. mangle* e em *L. racemosa* podem fornecer resultados sobre o comportamento fotossintético dessas espécies em nível bioquímico, incluindo indiretamente as trocas gasosas e a atividade da ribulose-1,5-bifosfato bem como outras enzimas do ciclo bioquímico da fotossíntese.

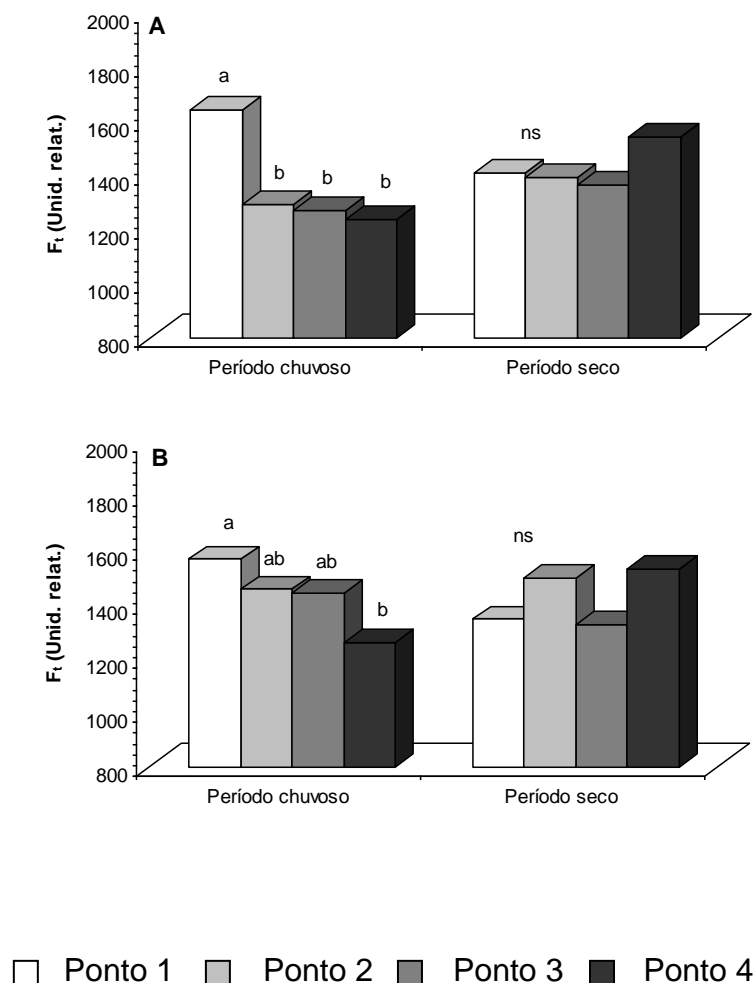


Figura 10 - Fluorescência terminal (Ft) em *Rhizophora mangle* L. (A) e *Laguncularia racemosa* Gaerth. (B) em diferentes pontos do manguezal de Vitória-ES, nos períodos chuvoso e seco de 2004. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os pontos de acordo com o teste Tukey ($P \leq 0,05$). ns não significativo. (n = 10)

Neste estudo, o ponto 2, localizado no bairro Jabour – grande Goiabeiras, sofre grande influência antrópica, com base em observações visuais de esgoto doméstico e/ou de pequenas indústrias que são lançados diretamente no

mangue, além da grande quantidade de lixo (pneus, plásticos, móveis inutilizáveis, latas, animais mortos, entre outros) depositada naquele ambiente. Durante as coletas de dados, foi observada deposição de óleo na superfície do sedimento durante intervalos de maré baixa. A

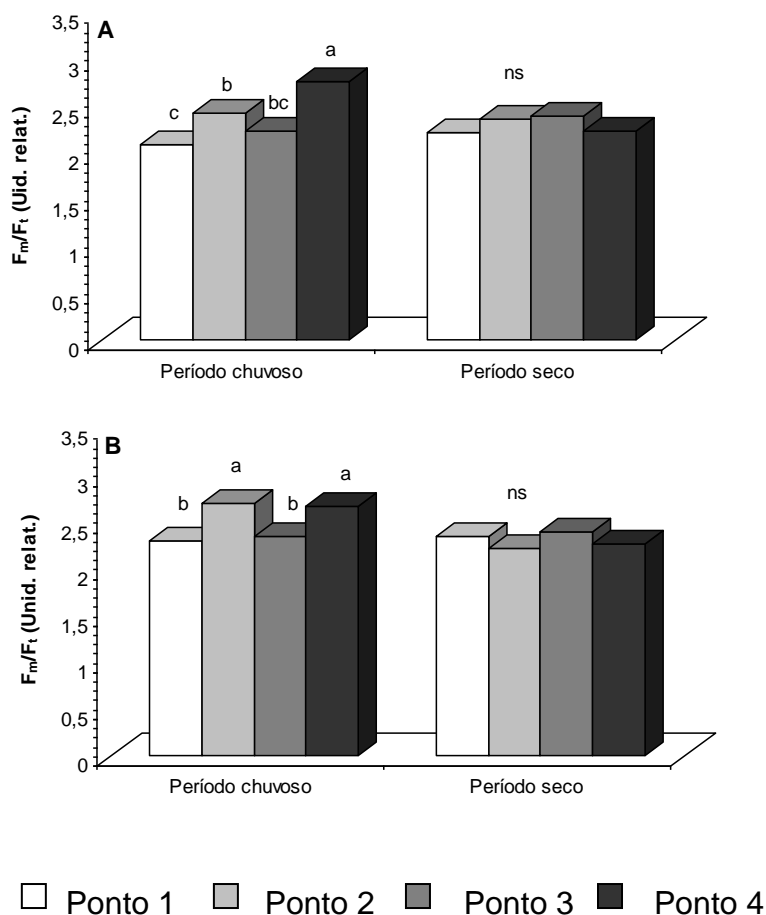


Figura 11 - Razão F_m/F_t em *Rhizophora mangle* L. (A) e *Laguncularia racemosa* Gaerth. (B) em diferentes pontos do manguezal de Vitória-ES, nos períodos chuvoso e seco de 2004. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os pontos de acordo com o teste Tukey ($P \leq 0,05$). ns não significativo. ($n = 10$)

deposição de carvão sobre a superfície foliar de *Avicennia marina* na Baía de Richards, Sul da África, causa redução na fixação do carbono fotossintético. Esta redução é resultado do decréscimo nas trocas gasosas entre o meio e a planta, gerada pela redução da penetração da luz nos tecidos fotossintéticos (NAIDOO e CHIRKOOT, 2004). De forma análoga, a deposição lixo e de óleo na superfície foliar pode impedir a penetração de luz e as trocas gasosas, reduzindo a eficiência da fixação do carbono.

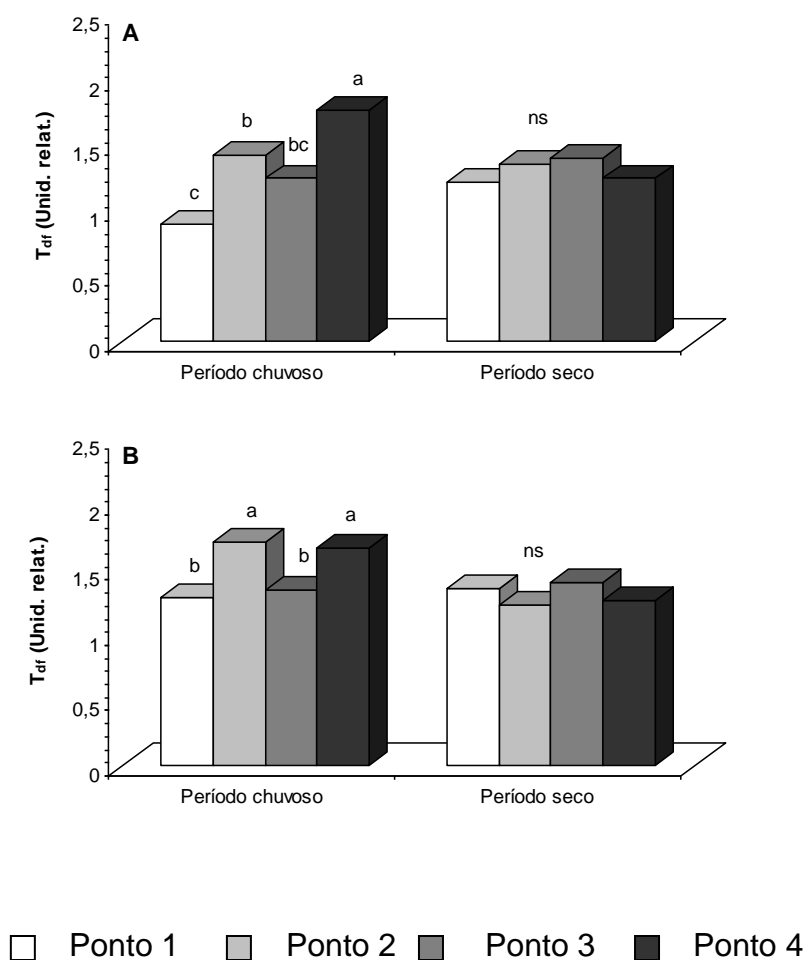


Figura 12 - Taxa de declínio da fluorescência (Tdf) em *Rhizophora mangle* L. (A) e *Laguncularia racemosa* Gaerth. (B) em diferentes pontos do manguezal de Vitória-ES, nos períodos chuvoso e seco de 2004. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os pontos de acordo com o teste Tukey ($P \leq 0,05$). ns não significativo. (n = 10)

Por outro lado, o ponto 4, localizado próximo à desembocadura do rio do Canal da Passagem permanece alagado por mais tempo durante os intervalos de maré

alta, submetendo as plantas às condições de baixa disponibilidade de oxigênio, geradas pela condição de alagamento, além da exposição aos elevados teores salinos. Sob condições de alagamento, a taxa fotossintética líquida é reduzida em *Kandelia candel* no manguezal do estuário do rio Jiulong, China (LUZHEN et al., 2004). Em adição, quando plantas de *Avicennia germinans* e *Bruguiera gymnorhiza* são expostas a elevados níveis de salinidade, simulando as condições de alagamento criadas pelo movimento das marés, mostram acentuada redução da assimilação do carbono (SOBRADO, 1999; TAKEMURA et al., 2000).

Neste estudo, ao contrário dos resultados supracitados, o aumento da velocidade das reações do ciclo de Calvin (F_m/F_t) e da capacidade de fixação do CO_2 (T_{df}) em *R. mangle* e em *L. racemosa* nos pontos 2 e 4 podem estar indicando uma resposta fisiológica aos fatores abióticos de estresse característicos desses pontos. Em outras palavras, estas espécies foram capazes de tolerar variações no ambiente, aumentando a taxa de fotossíntese.

Todas características avaliadas em *R. mangle* e *L. racemosa* tiveram valores muito semelhantes nos diferentes pontos. É o que ocorre, por exemplo, com a eficiência fotoquímica (F_v/F_m) e a eficiência da redução do CO_2 (F_t , F_m/F_t e T_{df}). Entretanto, quando se compara o período chuvoso com o período seco, ocorreram diferenças na fluorescência rápida. Os resultados apontam para um decréscimo na fluorescência inicial e aumento da eficiência fotossintética no período seco em *L. racemosa* em resposta aos maiores teores de ferro e zinco absorvidos neste período.

Com base nestes resultados, o uso de características fotossintéticas como a fluorescência inicial (F_o) e a eficiência fotoquímica do fotossistema II (F_v/F_m) constituem potenciais indicadores das condições ambientais.

Os valores obtidos para as diversas variáveis neste estudo servirão como referência para a posterior realização de estudos de monitoramento ambiental usando espécies vegetais de manguezal.

4. REFERÊNCIAS

ALMEIDA, A. A. F. e MAESTRI, M. Characteristics of slow chlorophyll fluorescence emission in four *Coffea arabica* genotypes submitted to water stress. **Photosynthetica**. v.32, n.2, p.161-169, 1996.

AWADA, M. e LONG, C. The selection of the phosphorus index in papaya tissue analyses. **Pro. ASHS**. v.94, n.5,p.501-504, 1969.

BACARIN, M. A. e MOSQUIM, P. R. Cinética de emissão de fluorescência das clorofilas de dois genótipos de feijoeiro. Ciências agrotécnicas, Lavras. v.26, n.4, p.705-710, 2002.

BAKER, N. R., ROSENQVIST, E. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. **Journal of Experimental Botany**. v.55, n.403, p.1607-1621, 2004.

BALAKRISHNAN, K., RAJENDRAN, C., KULANDAIVELU, G. Differential responses of iron, magnesium, and zinc deficiency on pigment composition, nutrient content, and photosynthetic activity in tropical fruit crops. **Photosynthetica**. v.38, n.3, p.477-479, 2000.

BEHRENDT, H., KORNMILCH, M., OPITZ, D., SCHMOLL, O., SCHOLZ, G. Estimation of the nutrient inputs into river systems – experiences from German rivers. **Regime Environmental Change**. v.3, p.107-117, 2002.

BELL, A. M., DUKE, N. C. Effects of photosystem II inhibiting herbicides on mangroves – preliminary toxicology trials. **Marine Pollution Bulletin**, 2004 (no prelo).

BRON, I. U., RIBEIRO, R. V., AZZOLINI, M., JACOMINO, A. P., MACHADO, E. C. Chlorophyll fluorescence as a tool to evaluate the ripening of “Golden” papaya fruit. **Postharvest Biology and Technology**. v.33, p.163-173, 2004.

BUCHANAN, B. B., GRUISSSEN, W., JONES, R. L. **Biochemistry and Molecular Biology of Plants**. American Society of Plant Physiologists, 2000, 1367p.

CAI, G. H., **Salt relations of mangroves along Northeast Hainan Coastal**. In: LI, M. S. Nutrient dynamics of a futian mangrove forest in Shenzhen, South China. **Estuarine, coastal and Shelf Science**. v.45, p.463-472, 1997.

CAMPBELL, S., MILLER, C., STEVEN, A., STEPHENS, A. Photosynthetic responses of two temperate seagrasses across a water quality gradient using chlorophyll fluorescence. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**. v.291, p.57-78, 2003.

CARMO, T. M. S., BRITO-ABAURRE, M. G.; MELO, R. M. S.; ZANOTTI-XAVIER, S.; COSTA, M. B.; HORTA, M. M. M. Os manguezais da baía norte de Vitória, Espírito Santo: um ecossistema ameaçado. **Revista Brasileira de Botânica**. v.55, n.4, p.801-818, 1995.

CHIU, C-Y, LEE, S-C, JUANG, H. T., HUR, M-T, HWANG, Y-H. Nitrogen nutritional status and fate of applied N in mangrove soils. **Botany Bulletin Academic**. v. 37, p.191-196, 1996.

COHEN, M. C. L., LARA, R. J., RAMOS, J. F. Da F., DITTMAR, T. Factors influencing the variability of Mg, Ca and K in waters of a mangrove creek in Bragança, North Brazil. **Mangroves and Salt Marshes**. v.3, p.9-15, 1999.

COSTANZO, S. D., O'DONOHUE, M. J., DENNISON, W. C. Assessing the influence and distribution of shrimp pond effluent in a tidal mangrove creek in north-east Australia. **Marine Pollution Bulletin**, 2003.

Da MATTA, F. M., MAESTRI, M., MOSQUIM, P. R., BARROS, R. S. Photosynthesis in coffee (*Coffea arábica* and *C. canephora*) as affected by winter and Summer conditions. **Plant Science**. v.128, p.43-50, 1997.

DOAN, J-M., SCHOEFS, B., RUBAN, A. V., E. A-L. Changes in the LHCl aggregation state during iron repletion in the unicellular red alga *Rodella violacea*. **FEBS letters**. v.533, p.59-62, 2003.

DOMINGOS, M., SANT'ANNA, S. M. R., SOUZA, S. R., SANT'ANNA, E. T. G., ALVES, E. S., SALDIVA, P. H. N. Bioindicação na cidade de São Paulo e aplicações em saúde pública. In: **Anais do 55º Congresso Nacional de Botânica**. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2004.

DUKE, N. C. & WATKINSON, A. J. Chlorophyll-deficient propagules of *Avicennia marina* and apparent longer term deterioration of mangrove fitness in oil-polluted sediments. **Marine Pollution Bulletin**, v.44, p. 1269-1276, 2002.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Serviço Nacional de Levantamento de Conservação de Solos. **Manual de métodos de análise de solo**. Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura, 1979, não paginado.

EVANS, K. A. Photosynthesis and nitrogen relationships in leaves of C₃ plants. **Oecologia**. v.78, p.9-19, 1989.

FALQUETO, A. R., SILVA, D. M. Eficiência fotossintética de *Rhizophora mangle* L. e *Laguncularia racemosa* Gaerth. em resposta a estresses

ambientais no manguezal da Ilha de Vitória-ES. **Gerenciamento Costeiro Integrado**. 2004 (no prelo)

FRY, B., BERN, A. L., ROSS, M. S., MEEDER, J. F. $\delta^{15}\text{N}$ studies of nitrogen use by the red mangrove, *Rhizophora mangle* L. in South Florida, **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 50, p. 291-296, 2000.

GONÇALVES, J. F., MARENCO, R. A. & VIEIRA, G. Concentration of photosynthetic pigments and chlorophyll fluorescence of mahogany and tonka bean under two light environments. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.13, n.2, p.149-157, 2001.

GRANDE, J. A., BORREGO, J., MORALES, J. A. A study of heavy metal pollution in the Tinto-Odiel estuary in southwestern Spain using factor analysis. **Environmental Geology**. v.39, p.1095-1101, 1999.

HOGARTH, P.J. **The Biology of Mangroves**. New York: Oxford University press, 1999. 228p.

HOLGUIN, G, VAZQUEZ, P., BASHAN, Y. The role of sediment microorganisms in the productivity, conservation, and rehabilitation of mangrove ecosystems: an overview. **Biology Fertility Soils**. v.33, p.265-278, 2001.

HONG, S-S., XU, D-Q. Light-induced increase in initial chlorophyll fluorescence F_0 level and the reversible inactivation of PS II reaction centers in soybean leaves. **Photosynthesis Research**. V.61, p.269-280, 1999.

IVANOV, A. G., PARK, Y. I., MISKIEWICZ, E., RAVEN, J. A., HUNER, N. P. A., OQUIST, G. Iron stress restricts photosynthetic intersystem electron transport in *Synechococcus* sp. PCC 7942. **FEBS Letters**. v.485, p.173-177, 2000.

KAO, W., TSAI, H. The photosynthesis and chlorophyll a fluorescence in seedlings of *Kandelia candel* (L.) Druce grown under different nitrogen and NaCl controls. **Photosynthetica**. v.37 (3), p.405-412, 1999.

KRAUSE, G. H., WEIS, E. **The photosynthetic apparatus and chlorophyll fluorescence. An introduction. Applications of chlorophyll fluorescence.** Kluwer Academic Publishers, p.3-11, 1988.

LI, M. S. Nutrient dynamics of a futian mangrove forest in Shenzhen, South China. **Estuarine, coastal and Shelf Science.** v.45, p.463-472, 1997.

LOTT, W. L., NERY, J. P., GLLO, J. R., MEDCALF, J. C. **A técnica de análise foliar aplicada ao cafeeiro.** Boletim técnico, São Paulo, IBEC Research Institute, 1956, 40p.

LUZHEN, C, WENQING, W., PENG, L. Photosynthetic and physiological responses of *Kandelia candel* L. Druce seedlings to duration of tidal immersion in artificial seawater. **Environmental and Experimental Botany** 2004

MacFARLANE, G. R. Leaf biochemical parameters in *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh as potential biomarkers of heavy metal stress in estuarine ecosystems. **Marine Pollution Bulletin.** v.44, p.244-256, 2002.

MacFARLANE, G. R., BURCHETT, M. D. Photosynthetic pigments and peroxidase activity as indicators of heavy metal stress in the grey mangrove, *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. **Marine Pollution Bulletin.** v.42, n.3, p.233-240, 2001.

MacFARLANE, G. R., PULKOWNIK, A., BURCHETT, M. D. Accumulation and distribution of heavy metals in the grey mangrove, *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh.: biological indication potential. **Environmental Pollution.** v.123, p.139-151, 2003.

MADEJÓN, P., MARAÑÓN, T., MURILLO, J. M., ROBINSON, B. White poplar (*Populus alba*) as a biomonitor of trace elements in contaminated riparian forests. **Environmental Pollution.** v.132, p.145-155, 2004.

MARSCHNER, H. Mineral Nutrition of Higher Plants. **Second edition.** Academic press, 1995. 889p.

NAIDOO, G. & CHIRKOOT, D. The effects of coal dust on photosynthetic performance of the mangrove, *Avicennia marina* in Richards Bay, South Africa. **Environmental Pollution**.v.127, p.359-366, 2004.

NIELSEN, T., ANDERSEN, F.O. Phosphorus dynamics during decomposition of mangrove (*Rhizophora apiculata*) leaves in sediments. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**. v.293, p.73-88, 2003.

OLIVEIRA, G., PEÑUELAS, J. Comparative protective strategies of *Cistus albidus* and *Quercus ilex* facing photoinhibitory winter conditions. **Environmental Experimental Botany**. v.47, p.281-289, 2002.

ORGE, M. D, R., PORSCHE, I. J., COSTA, M. C., LIMA, J. S., SOARES, S. E. D., JUSTINO, R. Assessment of oil refinery waste on *Rhizophora mangle* L. seedling growth in mangroves of Todos os Santos Bay, Bahia, Brazil. **Aquatic Ecosystem Health and Management**. v.3, p.471-477, 2000.

PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de Estatística Experimental**. 13ed. Piracicaba: Livraria Nobel, 1990. 467p.

POSPÍL, P. Mechanisms of non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching in higher plants. **Photosynthetica**. v.34, n.3, p.343-355, 1997.

SARRUGE, J. R. e HAAG, H. P. **Análises químicas em plantas**. Piracicaba, ESALQ, 1974, 56P.

SAYED, O. H. Chlorophyll fluorescence as a tool in cereal crop research. **Photosynthetica**. v.43, n.3., p.321-330, 2003.

SHIRKE, P. A. Leaf photosynthesis, dark respiration and fluorescence as influenced by leaf age in an evergreen tree, *Prosopis juliflora*. **Photosynthetica**. v.39, p.305-311, 2001.

SHIRKE P. A. & PATHRE, U. V. Diurnal and seasonal changes in photosynthesis and photosystem 2 photochemical efficiency in *Prosopis juliflora* leaves subjected to natural environmental stress. **Photosynthetica**, v.41 (1), p.83-89, 2003.

SILVA. D. M. **Metabolismo do carbono e do nitrogênio em plantas de soja noduladas sob omissão e ressuprimento de fósforo**. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) – Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1998. 117p.

SOBRADO, M. A., BALL, M. C. Light uses in relation to gain in the mangrove, *Avicennia marina*, under hypersaline conditions, **Australian Journal of Plant Physiology**, v.26, p.245-251, 1999.

TAKEMURA, T., HANAGATA, N., SUGIHARA, K., BABA, S., KARUBE, I., DUBINSKY, Z. Physiological and biochemical responses to salt stress in the mangrove, *Bruguiera gymnorrhiza*. **Aquatic Botany**. v.68, p.15-28, 2000.

TEDESCO, M. J., VOLKWEISS, S. J., BOHNEN, H. **Análises de solo, plantas e outros materiais**. Boletim técnico, 5, Porto Alegre, UFRGS, 1985, 188p.

VANGRONSVELD, J., CLIJSTERS, H. Toxic effects of metals. *In*: MAcFARLANE, G. R., BURCHETT, M. D. Photosynthetic pigments and peroxidase activity as indicators of heavy metal stress in the grey mangrove, *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. **Marine Pollution Bulletin**. v.42, n.3, p.233-240, 2001.

VAZQUEZ, P., HOLGUIN, G., PUENTE, M. E., LOPEZ-CORTES, A., BASHAN, Y. Phosphate-solubilizing microorganisms associated with the rhizosphere of mangroves in a semiarid coastal lagoon. **Biology Fertility soil**. v.30, p.460-468, 2000.

CAPÍTULO 3

ESTRESSE OXIDATIVO EM *Rhizophora mangle* L. E EM *Laguncularia racemosa* GAERTH. SOB CONDIÇÕES IMPACTADAS

RESUMO

A atividade da enzima peroxidase (EC 1.11.1.7) foi analisada em plantas de *Rhizophora mangle* L. e *Laguncularia racemosa* Gaerth. em quatro pontos do manguezal de Vitória, ES, como potencial indicadora de mudanças ambientais. *Rhizophora mangle* mostrou maior poder oxidante em todos os pontos analisados. A atividade da peroxidase nestas espécies não mostrou relação direta com o estado nutricional das plantas sugerindo a interferência de outros fatores ambientais. Os valores elevados da atividade da enzima peroxidase em *R. mangle*, independente da causa, indicaram sua sensibilidade às alterações ambientais, sugerindo o uso dessa característica fisiológica como indicadora de estresse.

Palavras-chave: Atividade da Peroxidase; Estresse oxidativo; *Laguncularia racemosa* Gaerth; *Rhizophora mangle* L.

CHAPTER 3

OXIDATIVE STRESS IN *Rhizophora mangle* L. AND *Laguncularia racemosa* GAERTH. UNDER IMPACTED CONDITIONS**ABSTRACT**

The activity of peroxidase enzyme (EC 1.11.1.7) was analyzed in plants of *Rhizophora mangle* L. and *Laguncularia racemosa* Gaerth. in four points of mangrove of Vitoria, ES, as indicator potential of environmental changes. *Rhizophora mangle* showed higher oxidant power in all points analyzed. The peroxidase activity in this species not showed direct relation with the nutritional state of plants, suggesting the interference of others environmental factors. The elevated values of peroxidase activity in *R. mangle*, independently of cause, indicated its sensibility at the environmental alterations, suggesting the use of that physiologic characteristic as stress indicator.

Keywords: *Laguncularia racemosa* Gaerth.; oxidative stress; Peroxidase activity; *Rhizophora mangle* L.

1. INTRODUÇÃO

Peroxidases (EC 1.11.1.7) são proteínas com atividade enzimática que utilizam H_2O_2 na oxidação de vários substratos orgânicos e inorgânicos (VERMA e DUBEY, 2003). Além de participarem de reações fisiológicas como a lignificação e biossíntese de etileno, atuam também na defesa celular contra a ação tóxica de espécies reativas de oxigênio.

A indução da peroxidase (POX) constitui uma resposta geral das plantas a um amplo número de estresses ambientais (MacFARLANE, 2002) como o estresse hídrico (LIMA et al., 2002; SYROS et al., 2004), o estresse por temperatura (KORNYEYEV et al., 2003), por níveis tóxicos de cádmio (WU et al., 2003), chumbo (MacFARLANE e BURCHETT, 2001; MacFARLANE, 2002; VERMA e DUBEY, 2003), zinco e cobre (MacFARLANE e BURCHETT, 2001; MacFARLANE, 2002), alagamento (AHMED et al., 2002) e salinidade (VAIDYANATHAN et al., 2003).

Todos esses fatores de estresse levam a limitação da assimilação do CO_2 , que precede a inativação das reações de transferência de elétrons gerando um excesso de poder redutor (LIMA et al., 2002). Como consequência dessa super-redução da cadeia de elétrons fotossintéticos, ocorre a formação de espécies reativas de oxigênio (ERO), que podem levar a danos fotoinibitórios e fotooxidativos (MARSCHNER, 1995; ASADA, 1999; VERMA e DUBEY, 2003).

Estas espécies reativas de oxigênio incluem o radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), radical hidroxila ($OH^{\cdot-}$) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2).

Em condições normais, a produção de espécies reativas de oxigênio nas células é menor que $240 \mu M s^{-1}$ de $O_2^{\cdot-}$ e o nível de H_2O_2 nos cloroplastos é , em média, de $0,5 \mu M$. Porém, sob condições de estresse, um pronunciado aumento da concentração de ERO ocorre, chegando a níveis superiores a $720 \mu M s^{-1}$ de $O_2^{\cdot-}$ e $15 \mu M$ de H_2O_2 nos cloroplastos (VAIDYANATHAN et al., 2003).

Os efeitos da absorção de diferentes metais sobre a atividade da peroxidase em plantas de manguezal são bem documentados (CHEESEMAN et al., 1997; MacFARLANE e BURCHETT, 2001; MacFARLANE, 2002; YE et al., 2003; LUZHEN, et al., 2004) e parte desses estudos sugerem o uso dessa característica bioquímica como indicador de mudanças ambientais.

A atividade da peroxidase em propágulos de *Avicennia marina* aumenta em concentrações crescentes de Zn, Cu e Pb, tanto em condições controladas (MacFARLANE e BURCHETT, 2001) quanto em condições naturais de três estuários na região de Sidney, Austrália (MacFARLANE, 2002). Alterações significativas na atividade da peroxidase também ocorrem em espécies não halófitas como a cevada (*Hordeum vulgare* L.) em resposta a diferentes concentrações de cádmio (Cd) na solução nutritiva (WU et al., 2003), café (*Coffea canephora*) em condições de déficit hídrico (LIMA et al., 2002), e algodão (*Gossypium hirsutum* L.) sob estresse por temperatura (KORNYEYEV et al., 2003).

O sedimento do manguezal atua como depósito de nutrientes oriundos, em parte, do lançamento de esgotos doméstico e industrial e do uso de fertilizantes e pesticidas agrícolas (MACHADO et al., 2002). Além disso, quantidades consideráveis de nutrientes chegam até os ecossistemas de manguezal dissolvidos na água do mar através do movimento das marés (GRANDE et al., 1999; HOLGUIN, et al., 2001; BEHRENDT et al., 2002; BELL e DUKE, 2004).

A entrada de nutrientes no ecossistema faz variar em grande escala sua disponibilidade para as plantas do mangue. No entanto, a variação nesta

disponibilidade pode ter um efeito modulador sobre a atividade da peroxidase em plantas superiores (SYROS et al., 2004). Entretanto, os efeitos diretos dessa modulação sobre os mecanismos antioxidativos precisam ser esclarecidos.

Do exposto, o presente estudo teve como objetivo analisar as variações da atividade da peroxidase em resposta ao teor de macro e micronutrientes nos tecidos foliares de *Rhizophora mangle* e *Laguncularia racemosa* e avaliar a aplicabilidade dessa característica bioquímica como um indicador de estresse nas condições de campo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material vegetal e Condições de amostragem

Plantas jovens de *Rhizophora mangle* L. e *Laguncularia racemosa* Gaerth. com aproximadamente 500 mm de altura, foram selecionadas em quatro pontos do manguezal de Vitória, ES (Anexo A). A localização geográfica e a descrição das principais características de cada ponto são mostradas na tabela 1.

Tabela 1 - Localização geográfica e principais características dos quatro pontos analisados no manguezal da Ilha de Vitória, ES.

Pontos	Localização	pH	Salinidade média	Descrição
1	20°15'20''S 40°18'3,4''W	7,0 ± 0,3	12,0 ± 5,6	Ilha do Lameirão, Ponto mais distante do mar
2	20°15'14''S 40°17'36''W	7,1 ± 0,3	9,0 ± 2,1	Bairro Jabour-Goiabeiras Poluição de origem antrópica
3	20°16'31''S 40°18'19''W		22,0 ± 6,6	Próximo ao Dpto. Ecologia/UFES
4	20°17'5,5''S 40°18'10''W	6,7 ± 0,2	24,0 ± 4,4	Próximo à Ponte da Passagem
		7,1 ± 0,3		

As coletas foram realizadas em agosto e setembro de 2004, onde os índices de precipitação médios encontrados foram de 56 e 79 mm, respectivamente. A média de temperatura mínima e máxima foi de 19 e 26°C em ambos os meses. O material vegetal foi coletado nas primeiras horas do dia (6:30 a 8:00 horas), no campo, durante intervalos de maré baixa (aproximadamente 0,1m de altura) concomitantemente com as medidas fotossintéticas.

2.2. Análise química de solo

Foram coletados aproximadamente 500 mg de sedimento da rizosfera das plantas analisadas foram coletados, secos em estufa com circulação forçada de ar a 75°C (AWADA e LONG, 1969) e analisados quimicamente para P, K, Ca, Mg, S, Fe, Zn, Cu e Mn e matéria orgânica (MO) de acordo com os métodos descritos por Tedesco et al. (1985).

O P e o K foram extraídos com uma solução de HCl 0,05 N + H₂SO₄ 0,025 N e determinados por colorimetria e espectrofotometria de chama, respectivamente; o Ca e o Mg extraídos com KCl 1 N, sendo determinados por titulação com EDTA; o S foi extraído com HCl pelo método gravimétrico; os micronutrientes Fe, Cu, Mn e Zn foram extraídos com HCl 0,1 N e determinados por espectrofotometria de absorção atômica; a porcentagem de matéria orgânica foi determinada após extração do carbono orgânico com bicromato de potássio e titulação com sulfato ferroso, multiplicando-se o resultado por 1,724 (EMBRAPA, 1979).

2.3. Análise química foliar

As amostras foliares foram constituídas de aproximadamente 50 folhas adultas e verdes do terceiro par de folhas completamente expandidas. As amostras foram acondicionadas em saco de papel, para secagem com estufa de

circulação forçada de ar a 75°C (AWADA e LONG, 1969) e analisadas quimicamente para N, P, K, Ca, Mg, S, Fe, Zn, Cu e Mn de acordo com os métodos descritos por Lott et al. (1956) e Sarruge e Haag (1974).

O N foi extraído com ácido sulfúrico e determinado por espectrofotometria com solução de indofenol; os nutrientes P, K, Ca, Mg, S, Fe, Cu, Mn e Zn foram submetidos à digestão nítrico-perclórica sendo as determinações do P feitas por colorimetria, K por espectrofotometria de chama e os demais nutrientes por espectrofotometria de absorção atômica.

2.4. Medidas Fotossintéticas

A cinética da emissão da fluorescência da clorofila *a* foi medida no terceiro par de folhas completamente expandidas, *in locu* entre 7:00 e 8:00 horas da manhã, pelo uso de um fluorômetro portátil *Handy-PEA* (Hanstech, King's Lynn, Norfolk, UK), que determina as características da fluorescência rápida - fluorescência inicial (F_o), fluorescência máxima (F_m), fluorescência variável (F_v) eficiência fotoquímica do fotossistema II (F_v/F_m) - e da fluorescência lenta - fluorescência terminal (F_t). Após 30 minutos de adaptação ao escuro, cada disco foliar foi exposto a um pulso de saturação de intensidade luminosa igual a $700 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ durante 180 segundos.

Neste estudo, entretanto, foram utilizados somente os valores da fluorescência inicial (F_o) e da eficiência fotoquímica do fotossistema II (F_v/F_m) para a discussão dos resultados.

2.5. Extração Protéica

As proteínas foram extraídas de 300 mg de tecido foliar de 10 plantas de cada espécie triturados em 30 mililitros de tampão fosfato 0,062 M (pH 7,8) em

presença de polivinilpirrolidona [na proporção de 1:100 (p/v)]. O homogenato foi centrifugado por 20 minutos a 5000g a 4°C. O sobrenadante, denominado

extrato bruto, foi estocado a 4°C utilizado para os ensaios de dosagem de proteínas e atividade da peroxidase (PUTTER, 1974).

2.6. Dosagem Protéica

O conteúdo protéico do extrato bruto foi determinado pelo método fotolorimétrico de acordo com Lowry et al. (1951), utilizando soro albumina bovina (1 mg/mL) como padrão.

2.7. Dosagem da Atividade da Peroxidase (EC.1.11.1.7)

A atividade da peroxidase (EC.1.11.1.7) foi determinada segundo a metodologia descrita por Putter (1974) com modificações. Uma alíquota de 500 µL do extrato bruto foi adicionado a 250 µL de água destilada e a 2250 µL do meio de incubação, contendo tampão fosfato 0,1 M (pH 7,0), guaiacol e peróxido de hidrogênio na proporção de 100:0,56:0,38 (v/v/v), respectivamente. Imediatamente após a adição do meio de incubação da enzima, as leituras foram efetuadas em espectrofotômetro à 470 nm em intervalos de 30 s durante 3 min. A atividade enzimática foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar do guaiacol (26,6 mM min⁻¹) e expressa em µmol de guaiacol oxidado min⁻¹ mg⁻¹ proteína.

2.8. Análise Estatística

Em cada um dos quatro pontos analisados neste trabalho, foram avaliadas 10 plantas de cada espécie, de acordo com um delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial (2 x 4), representando duas

espécies e quatro pontos de coleta. Os dados foram submetidos a uma análise de variância e, quando os valores de F foram significativos, comparações de médias foram realizadas, usando-se o teste Tukey, em nível de 5% de probabilidade (PIMENTEL-GOMES, 1990).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A atividade da enzima peroxidase variou significativamente em *Rhizophora mangle* nos pontos analisados. Os maiores valores da atividade dessa enzima foram obtidos no ponto 4 seguido pelo ponto 1 (Figura 1).

O ponto 4, por estar localizado próximo à desembocadura do Canal da Passagem, permanece alagado por maior tempo durante os intervalos de maré alta, submetendo as plantas às condições de baixa disponibilidade de oxigênio e a elevadas concentrações salinas. Neste estudo, essas condições ambientais podem ter induzido o aumento da atividade dessa enzima de defesa em *R. mangle*.

O ponto 1, localizado nas proximidades da Ilha do Lameirão, é sujeito à influência das águas fluviais que trazem, em direção ao ecossistema de manguezal, maiores teores de

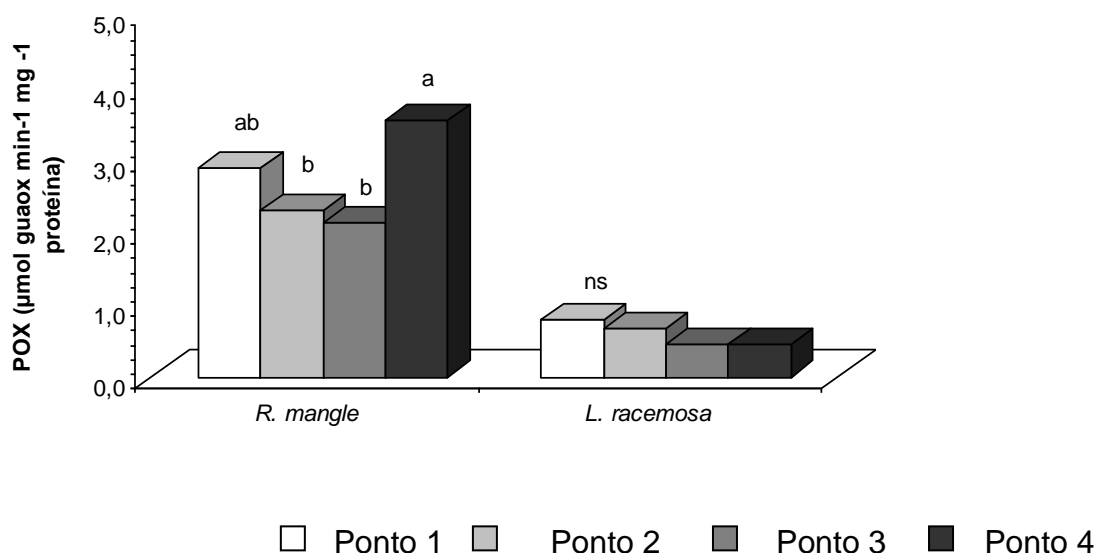


Figura 1 - Atividade da peroxidase em *Rhizophora mangle* L. (A) e *Laguncularia racemosa* Gaerth. (B) em diferentes pontos do manguezal de Vitória-ES. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os pontos de acordo com o teste Tukey ($P \leq 0,05$). ns não significativo. (n = 10)

MO e de nutrientes. Dessa forma, este ponto torna-se depósito de detritos e de íons minerais dissolvidos. Como se pode observar na figura 2, este ponto caracterizou-se por maior deposição de matéria orgânica (MO) e de nutrientes como K, Fe e Mn, o que pode ter induzido o aumento na atividade da enzima peroxidase em *R. mangle*.

Os pontos 2 e 3 apresentaram valores da atividade da peroxidase em *R. mangle* significativamente iguais aos do ponto 1. Entretanto, estes pontos mostraram características físico-químicas peculiares que, potencialmente, foram tidas como causa das respostas semelhantes nesta espécie. No ponto 2, localizado próximo ao bairro Jabour – grande Goiabeiras (Anexo A) é evidente a influência de origem antrópica no manguezal. Além dos nutrientes trazidos pela maré, a concentração de MO e de nutrientes no sedimento desse manguezal são influenciados também pelo lançamento direto de esgoto doméstico e de pequenas indústrias e oficinas mecânicas, além da grande quantidade de lixo (pneus, plásticos, móveis inutilizáveis, latas, animais mortos, entre outros) depositada naquele ambiente. A descarga de esgoto doméstico e industrial diretamente nos manguezais e a aplicação de defensivos agrícolas contribuem consideravelmente para o aumento na deposição de nutrientes nos manguezais de diversas partes do mundo (GRANDE et al., 1999; HOLGUIN, et al., 2001; BEHRENDT et al., 2002; BELL e DUKE, 2004). Neste estudo, foram observados maiores teores de P, Zn, Cu e Mn no sedimento do manguezal do ponto 2, o que, juntamente aos poluentes lançados pela população local, foi responsável pelo aumento da atividade da peroxidase em *R. mangle*. No ponto 3, níveis elevados de salinidade podem ter contribuído para o aumento na atividade da peroxidase em *R. mangle*.

Apesar das duas espécies estudadas possuírem, qualitativamente, a mesma necessidade nutricional (CUZZUOL e CAMPOS, 2001), houve diferença entre elas na absorção de determinados nutrientes, como Zn, Fe e Mn. Foi evidente o aumento na absorção de Fe e Zn em *Laguncularia racemosa* e de Mn em *R. mangle* (Figuras 3 e 4). Cuzzuol e Campos (2001) investigando as propriedades físicas e químicas do sedimento e suas relações com o balanço dos nutrientes foliares em *R. mangle*, *L. racemosa* e *A. germinans* no manguezal do Rio Mucuri,

BA, Brasil, também observaram diferença na concentração interna desses elementos minerais nestas espécies.

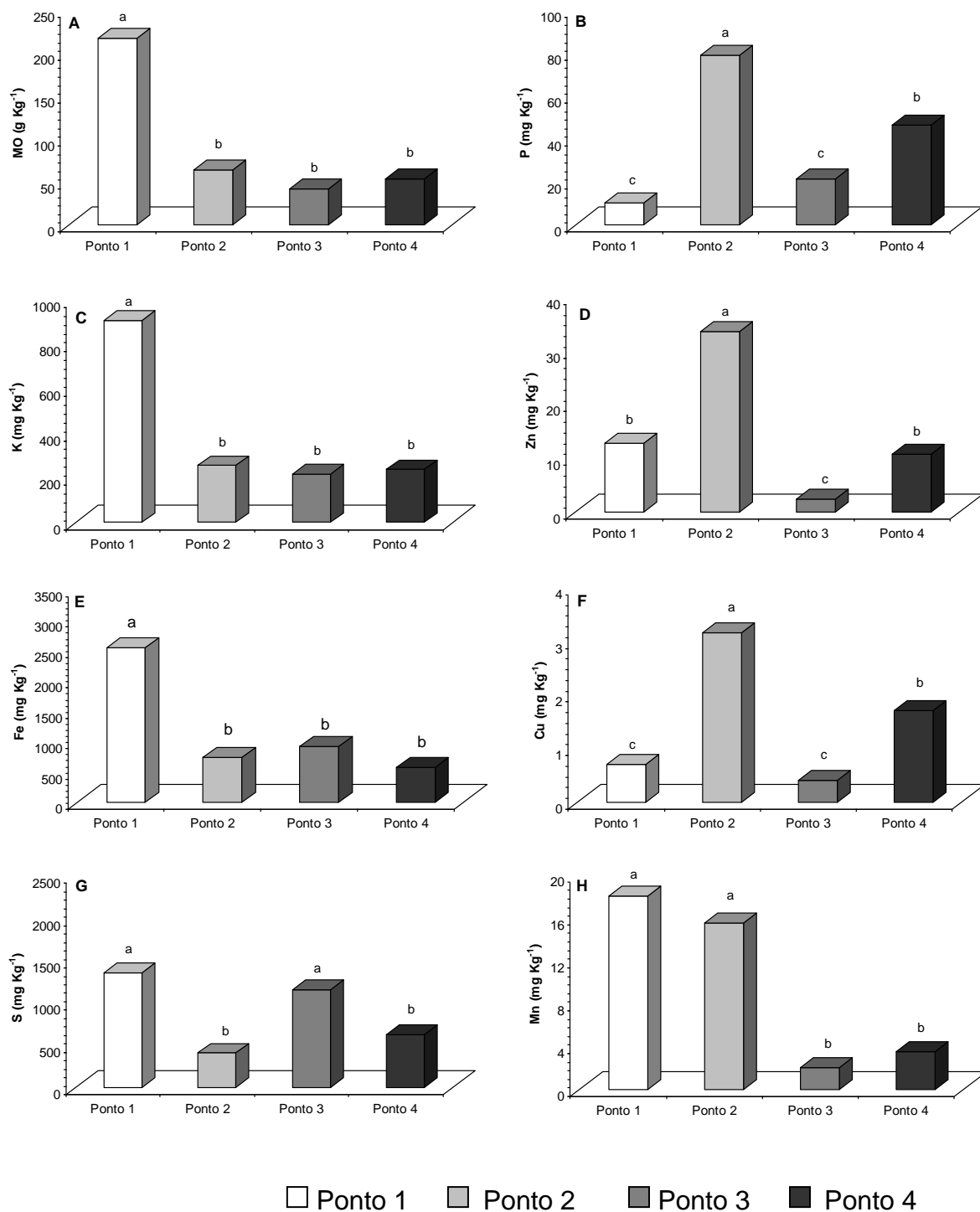


Figura 2 - Concentração de matéria orgânica (MO), fósforo (P), potássio (K), zinco, Zn), ferro (Fe), cobre (Cu), enxofre (s) e manganês (Mn) no sedimento do manguezal de Vitória-ES. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os pontos para cada nutriente de acordo com o teste Tukey ($P \leq 0,05$). (n = 2).

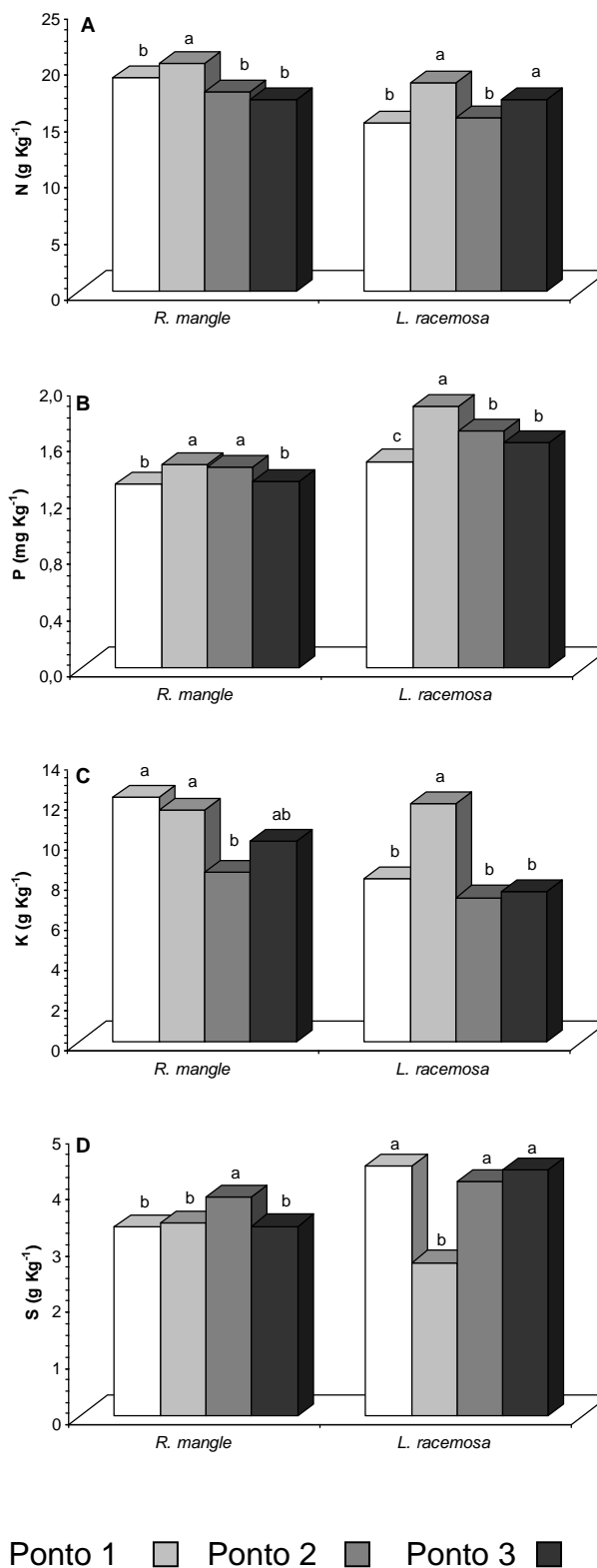


Figura 3 - Concentração de nitrogênio (A), fósforo (B), potássio (C) e enxofre (D) nos tecidos foliares de *Rhizophora mangle* L. e de *Laguncularia racemosa* Gaerth. no manguezal de Vitória-ES. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os pontos para cada nutriente de acordo com o teste Tukey ($P \leq 0,05$). ns não significativo ($n = 2$)

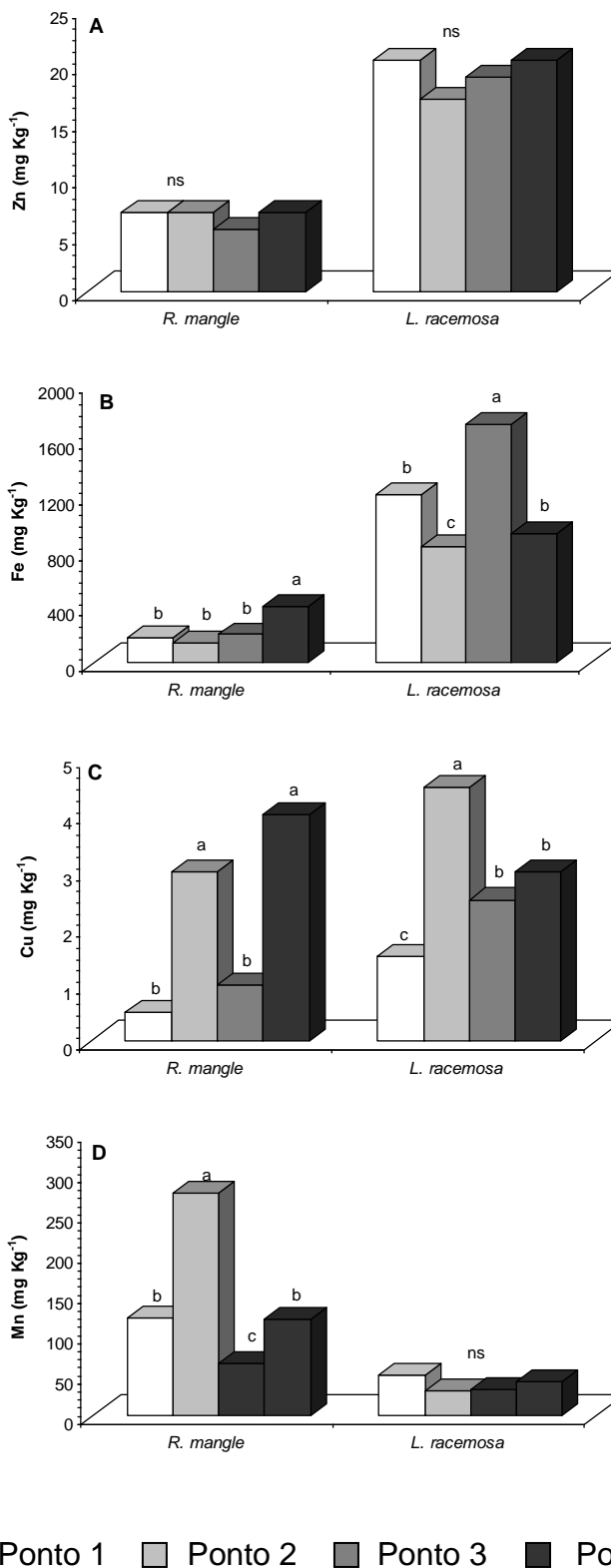


Figura 4 - Concentração de zinco (A), ferro (B), cobre (C) e manganês (D) nos tecidos foliares de plantas de *Rhizophora mangle* L. e de *Laguncularia racemosa* Gaerth. no manguezal de Vitória-ES. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os pontos para cada nutriente de acordo com o teste Tukey ($P \leq 0,05$). ns não significativo ($n = 2$)

Concentrações elevadas de Fe e Zn nos tecidos foliares de *L. racemosa* não causaram aumento da atividade da enzima peroxidase, ao contrário dos resultados observados em outros estudos, como o de Macfarlane e Burchett (2001), em que elevados teores de zinco nos tecidos foliares de plantas de *Avicennia marina*, sob condições controladas, são tidas como causa do aumento da atividade da peroxidase.

Baixos valores da atividade da peroxidase em *L. racemosa* podem ter como causa o bloqueio da biossíntese da enzima (AHMED et al., 2002) ou a inibição da sua atividade através de alterações estruturais causadas pelo desligamento das subunidades que compõem a enzima como consequência da ação tóxica das espécies reativas de oxigênio (VERMA e DUBEY, 2003). Declínio da atividade da catalase em arroz (*Oryza sativa* L.) é observado em resposta a níveis tóxicos de chumbo (Pb), sugerindo um possível retardamento na remoção do H₂O₂ estando de acordo com as observações descritas acima (VERMA e DUBEY, 2003).

A produção de espécies reativas de oxigênio é relacionada aos valores da fluorescência inicial (F_o) e da eficiência fotoquímica do fotossistema II (F_v/F_m). Considerando que valores da razão F_v/F_m em torno de 0,80 – 0,83 são obtidos em folhas de um amplo número de espécies vegetais sem sintomas de fotoinibição crônica (SOBRADO, 1999; SHIRKE, 2001; OLIVEIRA e PEÑUELAS, 2002; SHIRKE e PATHRE, 2003), é permitido supor que *R. mangle* e *L. racemosa* possuem elevada eficiência de captação da energia luminosa (Figura 5).

O melhor aproveitamento da energia de excitação por *R. mangle* e *L. racemosa* impede o aumento da produção de espécies reativas de oxigênio, e reduz, dessa forma, a atividade da peroxidase, embora danos oxidativos nem sempre estejam diretamente envolvidos nos danos sofridos pela maquinaria fotossintética (AHMED et al., 2002). Decréscimos na fotossíntese e na atividade da ribulose-1,5-bifosfato em cevada, sob estresse por alagamento, coincidem com alterações na atividade da superóxido dismutase (SOD) nos cloroplastos e na concentração da peroxidase (YORDANOVA e POPOVA, 2001).

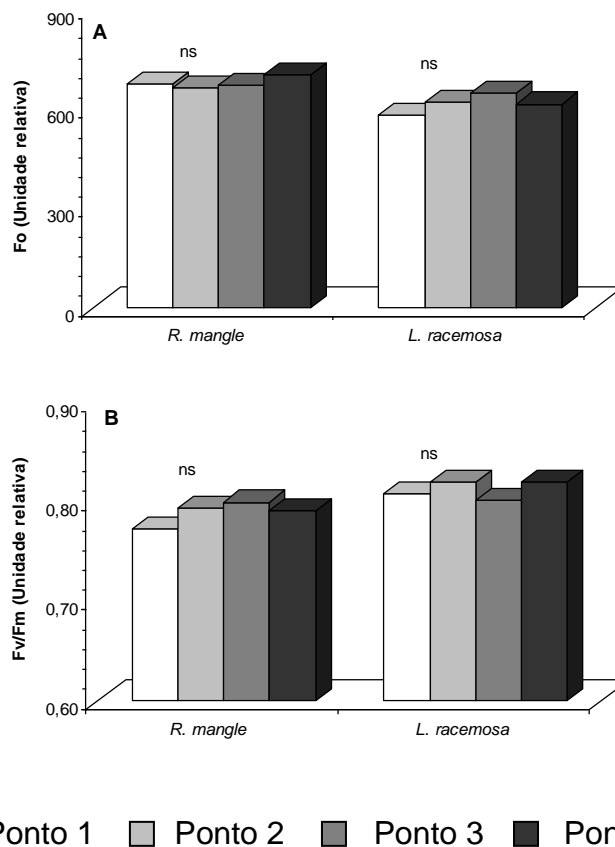


Figura 5 - Fluorescência inicial (F_o - A) e eficiência fotoquímica do fotossistema II (F_v/F_m - B) em *Rhizophora mangle* L. (A e C) e *Laguncularia racemosa* Gaerth. (B e D) em diferentes pontos do manguezal de Vitória-ES. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os pontos de acordo com o teste Tukey ($P \leq 0,05$). ns não significativo. (n = 10)

Entretanto, é preciso ressaltar que, neste trabalho, desenvolvido em condição de campo, vários fatores ambientais podem ter agido em conjunto e de forma não controlada, influenciando e, portanto, dificultando a interpretação dos resultados.

Pelos resultados apresentados, é permitido inferir a utilização da *R. mangle* como potencial indicadora de agentes causadores de estresse do meio, haja visto a maior variação, reflexo de maior sensibilidade, da atividade da peroxidase nesta espécie.

4. REFERÊNCIAS

AHMED, S.; NAWATA, E.; HOSOKAWA, M.; DOMAE, Y.; SAKURATANI, T. Alterations in photosynthesis and some antioxidant enzymatic activities of mungbean subjected to waterlogging. **Plant Science**, v.163, p.117-123, 2002.

ASADA, K. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygen and dissipation of excess photons. **Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.50, p.601-639, 1999.

AWADA, M.; LONG, C. The selection of the phosphorus index in papaya tissue analyses. **Pro ASHS**, v.94, n.5,p.501-504, 1969.

BEHRENDT, H.; KORNMILCH, M.; OPITZ, D.; SCHMOLL, O.; SCHOLZ, G. Estimation of the nutrient inputs into river systems – experiences from German rivers. **Regime Environmental Change**, v.3, p.107-117, 2002.

BELL, A. M.; DUKE, N. C. Effects of photosystem II inhibiting herbicides on mangroves – preliminary toxicology trials. **Marine Pollution Bulletin**, 2004 (no prelo).

BRON, I. U.; RIBEIRO, R. V.; AZZOLINI, M.; JACOMINO, A. P.; MACHADO, E. C. Chlorophyll fluorescence as a tool to evaluate the ripening of “Golden” papaya fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v.33, p.163-173, 2004.

CHEESEMAN, J. M.; HERENDEEN, L. B.; CHEESEMAN, A. T.; CLOUGH, B. F. Photosynthesis and photoprotection in mangroves under field conditions. **Plant, Cell and Environment**, v.20, p.579-588, 1997.

CUZZUOL, G. R. F.; CAMPOS, A. Aspectos nutricionais na vegetação de manguezal do estuário do Rio Mucuri, Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v.24, n.2, p.227-234, 2001.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Serviço Nacional de Levantamento de Conservação de Solos. **Manual de métodos de análise de solo**. Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura, 1979, não paginado.

GRANDE, J. A.; BORREGO, J.; MORALES, J. A. A study of heavy metal pollution in the Tinto-Odiel estuary in southwestern Spain using factor analysis. **Environmental Geology**, v.39, p.1095-1101, 1999.

HOLGUIN, G.; VAZQUEZ, P.; BASHAN, Y. The role of sediment microorganisms in the productivity, conservation, and rehabilitation of mangrove ecosystems: an overview. **Biology Fertility Soils**, v.33, p.265-278, 2001.

KORNYEYEV, D.; LOGAN, A. B.; ALLEN, R. D.; HOLADAY, S. Effect of chloroplastic overproduction of ascorbate oxidase on photosynthesis and photoprotection in cotton leaves subjected to low temperature photoinhibition. **Plant Science**, v.165, p.1033-1041, 2003.

LI, M. S. Nutrient dynamics of a futian mangrove forest in Shenzhen, South China. **Estuarine, coastal and Shelf Science**, v.45, p.463-472, 1997.

LIMA, A. L. S.; Da MATTA, F. M.; PINHEIRO, H. A.; TOTOLA, M.R.; LOUREIRO, M. E. Photochemical responses and oxidative stress in two clones of *Coffea canephora* under water deficit conditions. **Environmental and Experimental Botany**, v.47, p.239-247, 2002.

LOTT, W. L.; NERY, J. P.; GILLO, J. R.; MEDCALF, J. C. **A técnica de análise foliar aplicada ao cafeeiro**. Boletim técnico, São Paulo, IBEC Research Institute, 1956, 40p.

LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal Biology Chemistry**, v. 193, p. 265-275, 1951.

LUZHEN, C.; WENQING, W.; PENG, L. Photosynthetic and physiological responses of *Kandelia candel* L. Druce seedlings to duration of tidal immersion in artificial seawater. **Environmental and Experimental Botany**, 2004 (no prelo)

MACFARLANE, G. R. Leaf biochemical parameters in *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh as potential biomarkers of heavy metal stress in estuarine ecosystems. **Marine Pollution Bulletin**, V.44, p.244-256, 2002.

MACFARLANE, G. R.; BURCHETT, M. D. Photosynthetic pigments and peroxidase activity as indicators of heavy metal stress in the grey mangrove, *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. **Marine Pollution Bulletin**, v.42, n.3, p.233-240, 2001.

MACHADO, W.; MOSCATELLI, L. G.; REZENDE, L. G.; LACERDA, L. D. Mercury, zinc, and copper accumulation in mangrove sediments surrounding a large landfill in southeast Brazil. **Environmental Pollution**, v.120, p.455-461, 2002.

MARSCHNER, H. **Mineral Nutrition of Higher Plants**. Second edition. Academic press, 1995. 889p.

OLIVEIRA, G.; PEÑUELAS, J. Comparative protective strategies of *Cistus albidus* and *Quercus ilex* facing photoinhibitory winter conditions. **Environmental Experimental Botany**, v.47, p.281-289, 2002.

PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de Estatística Experimental**. 13ed. Piracicaba: Livraria Nobel, 1990. 467p.

PUTTER, J. Peroxidases. *In*: YE, Y., NORA, F. Y., WONG, Y. S., LU, C. Y. Growth and physiological responses of two mangroves species (*Bruguiera gymnorrhiza* and *Kandelia candel*) to waterlogging. **Environmental and Experimental Botany**, v.49, p.209-221, 2003.

SARRUGE, J. R.; HAAG, H. P. **Análises químicas em plantas**. Piracicaba, ESALQ, 1974, 56p.

SHIRKE P. A.; PATHRE, U. V. Diurnal and seasonal changes in photosynthesis and photosystem 2 photochemical efficiency in *Prosopis juliflora* leaves subjected to natural environmental stress. **Photosynthetica**, v.41, n.1, p.83-89, 2003.

SHIRKE, P. A. Leaf photosynthesis, dark respiration and fluorescence as influenced by leaf age in an evergreen tree, *Prosopis juliflora*. **Photosynthetica**, v.39, p.305-311, 2001.

SOBRADO, M. A.; BALL, M. C. Light uses in relation to gain in the mangrove, *Avicennia marina*, under hypersaline conditions. **Australian Journal of Plant Physiology**, v.26, p.245-251, 1999.

SYROS, T.; YUPSANIS, T.; OMIROU, M.; ECONOMOU, A. Photosynthetic response and peroxidases in relation to water and nutrient deficiency in gerbera. **Environmental and Experimental Botany**, 2004. (no prelo)

TEDESCO, M. J.; VOLKWEISS, S. J.; BOHNEN, H. **Análises de solo, plantas e outros materiais**. Boletim técnico, 5, Porto Alegre, UFRGS, 1985, 188p.

VAIDYANATHAN, H.; SIVAKUMAR, P.; CHAKRABARTY, R.; THOMAS, G. Scavenging of reactive oxygen species in NaCl-stressed rice (*Oryza sativa* L.) differential response in salt-tolerant and sensitive varieties. **Plant Science**, v.165, p.1411-1418, 2003.

VERMA, S.; DUBEY, R. S. Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants. **Plant Science**, v.164, p.645-655, 2003.

WU, F.; ZHANG, G.; DOMINY, P. Four barley genotypes responses differently to cadmium: lipid peroxidation and activities of antioxidant capacity. **Environmental and Experimental Botany**, v.50, p.67-78, 2003.

YE, Y.; NORA, F. Y.; WONG, Y. S.; LU, C. Y. Growth and physiological responses of two mangroves species (*Bruguiera gymnorrhiza* and *Kandelia candel*) to waterlogging. **Environmental and Experimental Botany**, v.49, p.209-221, 2003.

YORDANOVA, R.Y., POPOVA, L.P. Photosynthetic response of barley plants to soil flooding. **Photosynthetica**, v.39, p.515-520, 2001.

RESUMO E CONCLUSÕES

As análises feitas neste trabalho mostraram que os parâmetros da fluorescência da clorofila *a*, o conteúdo de pigmentos fotossintéticos e a atividade da peroxidase em plantas de *Rhizophora mangle* e *Laguncularia racemosa*, avaliadas em quatro diferentes pontos do manguezal do Município de Vitória-ES durante o período chuvoso e seco, constituem potenciais indicadores de alterações ambientais.

Nos dois períodos analisados, houve um aumento no conteúdo de clorofila *a* e *b* e de pigmentos carotenóides nos pontos de maior poluição ambiental tanto em *R. mangle* como em *L. racemosa*. A clorofila *b* e os carotenóides atuam como pigmentos fotoprotetores. Portanto, um aumento no seu conteúdo constitui uma resposta das plantas aos fatores de estresse do ambiente.

Os valores da fluorescência inicial foram mantidos dentro da normalidade em *L. racemosa* durante o período seco, coincidindo com o aumento na absorção de ferro de zinco. A eficiência fotoquímica do fotossistema II (FSII) avaliada pela razão F_v/F_m manteve-se elevada no período seco em *L. racemosa*. Estes resultados permitem indicar um mecanismo de proteção à maquinaria fotossintética contra danos gerados pelo excesso de energia de excitação. Durante o período chuvoso foram observados elevados valores da razão F_v/F_m no ponto 2, em ambas as espécies.

Neste ponto, altamente impactado pelo lançamento de esgoto diretamente no manguezal, observou-se maior eficiência de utilização do ATP e do NADPH produzidos durante a fase fotoquímica da fotossíntese, aumento da velocidade das reações do ciclo de Calvin (F_m/F_t) e da taxa de fixação do CO_2 (T_{df}), indicando a tolerância dessas espécies às variações no ambiente e que as medidas da emissão da fluorescência da clorofila *a* podem ser boas indicadoras da qualidade ambiental. Nestes pontos, *R. mangle* e *L. racemosa* responderam às variações do ambiente através do aumento da fotossíntese.

A atividade da peroxidase foi significativamente maior em *R. mangle*, indicando maior sensibilidade desta espécie às alterações ambientais, fazendo dela um potencial bioindicador.

Embora os resultados do presente trabalho possam contribuir para o melhor entendimento da influência das variações do ambiente sobre a ecofisiologia de plantas de mangue e o conseqüente uso de parâmetros fisiológicos e bioquímicos como indicadores dessas alterações, são necessários estudos, sob condições controladas, que acondicionem melhores esclarecimentos sobre os efeitos isolados de cada fator de estresse do ambiente sobre os aspectos ecofisiológicos de espécies vegetais do manguezal.

Anexo A: Mapa do manguezal do Município de Vitória-ES, indicando os respectivos pontos de coleta de dados. Fonte: Secretaria Municipal de Meio Ambiente/ Núcleo de Informação e Geoprocessamento – Prefeitura de Vitória, ES.