



# TROCAS GASOSAS EM INDIVÍDUOS JOVENS DE IPOMOEA NIL VAR.'SCARLET O'HARA' MANTIDOS EM LOCAL CONTAMINADO POR OZÔNIO

S.R.A.S.Viola

S.T. Meirelles; R.M. Moraes

1. Instituto de Botânica, Seção de Ecologia, Av. Miguel Stefano, 3687, Água Funda, 04301, São Paulo, Brasil. 2. Universidade de São Paulo, Instituto de Biociências, Departamento de Ecologia, Rua do Matão, Travessa 14 nº 321, 05508 - 900, São Paulo, Brazil. Fone: 5073 6300 - sandraviola@terra.com.br

## INTRODUÇÃO

O ozônio ( $O_3$ ) está entre os poluentes gasosos mais tóxicos, sendo responsável por danos consideráveis a espécies nativas e à produtividade agrícola em escala global (Ashmore, 2005).

A fotossíntese é um processo particularmente sensível ao  $O_3$  e sua redução pode ser provocada por alterações envolvendo movimentos estomáticos, transporte de elétrons e reações enzimáticas (Rodríguez&Tascon, 2001). A ribulose bifosfato carboxilase oxigenase, enzima responsável pela fixação de  $CO_2$ , tem sua síntese e atividade afetadas, sendo, geralmente, a principal causa da redução da fotossíntese líquida (Farage & Long, 1999).

O ozônio pode induzir a manifestação de injúrias foliares visíveis em espécies sensíveis, sendo sua entrada para o interior da folha determinada pela condutância estomática.

O uso de vegetais como bioindicadores, ou seja, espécies escolhidas por sua sensibilidade ou tolerância a vários poluentes; (Arndt & Schweizer, 1991), apresenta vantagens em relação aos equipamentos convencionais de monitoramento, pois é de baixo custo e possui significado biológico.

A espécie *Ipomoea nil* 'Scarlet O' Hara' foi apresentada como sensível ao ozônio por Nouchi & Aoki (1977) e vem sendo testada como possível bioindicadora do  $O_3$  para regiões tropicais (Ferreira, 2007). Este estudo pretende investigar as relações entre injúrias visíveis, trocas gasosas e concentração de ozônio buscando contribuir para a avaliação do potencial da espécie como bioindicadora sensível da presença de ozônio no ar.

## OBJETIVOS

Este estudo tem como objetivo avaliar a relação entre as trocas gasosas de  $CO_2$  e  $H_2$  no surgimento de injúrias foliares visíveis em plantas jovens de *Ipomoea nil* 'Scarlet O' Hara', concentração de  $O_3$ , além de hierarquizar as variáveis

climáticas ou da qualidade do ar mais importantes na determinação da resposta biológica. A aquisição desse conhecimento é necessária para verificar se a espécie é adequada para ser utilizada como bioindicadora sensível ao  $O_3$ .

## MATERIAL E MÉTODOS

O local de estudo foi a sede do Instituto de Botânica, situado no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga - PEFI. Sua escolha fundamentou - se no fato de estudos com plantas bioindicadoras terem demonstrado que esse local é intensamente afetado pelo ozônio e pouco afetado por outros poluentes (Klumpp *et al.*, 1994; Domingos *et al.*, 2002), o que foi comprovado por meio da realização do monitoramento da concentração de poluentes no local.

As plantas de *I. nil* 'Scarlet O' Hara' foram obtidas a partir da germinação de sementes disponíveis comercialmente ([www.cnseeds.co.uk](http://www.cnseeds.co.uk)). Após o cultivo em gerbox foram transplantadas em vasos plásticos de 1,5 litros contendo três cordões de náilon para irrigação por capilaridade e preenchidos com substrato comercial Plantimax (Eucatex). Os vasos permaneceram em casa de vegetação com ar filtrado e semanalmente receberam 100 ml da solução nutritiva de Hoagland (Epstein 1975) até que as plantas alcançassem altura ideal para exposição em ambiente aberto. A cada mês, 36 plantas foram colocadas em exposição no ambiente em bancadas cobertas com sombrite a 50%, sendo sorteados seis dias para amostragem. O período de exposição compreendeu primavera, verão, outono, e inverno.

Semanalmente, foram realizadas vistorias nas plantas expostas ao ambiente e quando encontrados sintomas foliares semelhantes aos induzidos pelo ozônio, foi estimada a porcentagem da área foliar afetada. Os sintomas foliares visíveis surgem nas folhas mais velhas como pontos claros amarelados entre as nervuras, denominados cloroses, e podem evoluir a necroses, quando ocorre morte da célula. As folhas avaliadas foram a 6 e a 7, de acordo com o protocolo do VDI (2003). Seguiu - se o protocolo para identificação de

sintomas visíveis induzidos por ozônio proposto por Schaub (2001), adotado internacionalmente.

As trocas gasosas foram medidas entre 9:00h e 11:00h, nas mesmas folhas em que foram avaliadas as injúrias visíveis, com um analisador de gases por infravermelho (LCPro, ADC, UK), sob irradiância de saturação ( $700 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , determinada previamente através de curvas de resposta à luz) e concentração de  $\text{CO}_2$  e temperatura do ambiente.

O fluxo de entrada do ozônio na folha foi determinado através da seguinte equação, proposta por Dittmar *et al.*, (2005):  $\langle p/ \rangle$

$$\text{Fluxo} = \text{gs} \cdot (\text{ca} - \text{ci}) / 1,68$$

onde: gs = condutância estomática; ca = concentração aérea de ozônio; ci = concentração de ozônio no interior da folha, assumida como igual a zero; 1,68 = fator de correção da difusão do ozônio em relação à do vapor de água.

As concentrações de  $\text{O}_3$  foram monitoradas ao longo do estudo por técnicos da Seção de Ecologia. Dados climáticos como temperatura, umidade relativa do ar, precipitação e radiação global foram fornecidos pela Estação Meteorológica do Instituto Astronômico e Geofísico da USP (IAG), sediada no interior do PEFI.

Após análise descritiva dos resultados obtidos, realizou-se a comparação entre aqueles referentes às folhas 6 e 7 em cada dia de amostragem através de teste t. Diferenças entre médias obtidas em cada estação foram identificadas por meio de análise de variância (One Way ANOVA). Quando foram verificadas diferenças significativas, foram realizados testes de comparações múltiplas (Student - Newman Keuls) para discriminá-las.

A relação entre as variáveis associadas com os experimentos foi explorada através de uma análise de componentes principais, aplicada a matrizes de dados contendo valores de precipitação, assimilação líquida, condutância estomática, transpiração, danos visíveis, fluxo de  $\text{O}_3$ , AOT40 (índice referente à exposição acumulada de ozônio acima de 40 ppb.h, proposto para proteção à vegetação de regiões temperadas (Fuhrer *et al.*, 1997) e utilizado aqui apenas em termos comparativos), temperatura, umidade relativa do ar, precipitação e radiação global. O método empregado na análise de componentes principais foi o de centralização e padronização da matriz, sendo, portanto, empregada uma matriz de correlação de produto - momento. A interpolação dos escores nos dois primeiros eixos foi feita por uma escalização euclidiana.

## RESULTADOS

As maiores médias de temperatura, radiação e umidade relativa, além do maior volume de chuvas, foram registradas no verão. Os valores estão dentro da faixa normalmente verificada na cidade de São Paulo.

Durante as exposições de verão, não foi registrada qualquer ultrapassagem do padrão nacional de qualidade do ar (padrão =  $160 \mu\text{g.m}^{-3}$ , média horária, como proposto pela Resolução CONAMA nº 003 de 28 de junho de 1990 para o  $\text{O}_3$ ) e a concentração máxima de ozônio registrada foi de  $102 \mu\text{g.m}^{-3}$  no mês de março. No outono houve maior frequência de dias com condições climáticas favoráveis à

formação de  $\text{O}_3$ , foram registrados valores altos de temperatura e radiação e concentração máxima de  $\text{O}_3$  igual a  $296 \mu\text{g.m}^{-3}$ . O inverno foi a estação em que houve menos oscilação dos valores médios diários de concentração de  $\text{O}_3$ , com máxima de  $150 \mu\text{g.m}^{-3}$  e nenhuma ultrapassagem do padrão da qualidade do ar. A concentração máxima de ozônio registrada na primavera foi de  $160 \mu\text{g.m}^{-3}$ . De um modo geral, as concentrações de ozônio verificadas ao longo de todo o período de estudo estiveram abaixo da média apresentada nos últimos relatórios da CETESB (CETESB 2007, CETESB 2008). Isso se deve, principalmente, ao fato das condições climáticas não terem favorecido a formação do poluente na atmosfera.

Não foram considerados os sintomas foliares visíveis no verão, pois as plantas apresentaram uma pequena infestação por fungos. Não houve diferença estatística nos sintomas foliares visíveis (expressos em porcentagem do limbo ocupada por eles) entre as estações de outono, inverno e primavera nas plantas de I.nil 'Scarlet O'Hara' expostas no ambiente do PEFI. Dentro de cada estação, entretanto, a presença de sintomas visíveis variou consideravelmente. No outono, as plantas apresentaram sintomas semelhantes aos induzidos por ozônio depois de aproximadamente duas semanas de exposição. O mês de abril foi o que as plantas apresentaram maior incidência de injúrias semelhantes às induzidas pelo poluente (40%).

Foi possível observar nos meses de inverno e primavera variação nas porcentagens médias de injúrias foliares entre os diversos dias de amostragem. Durante todo o período de exposição, as plantas apresentaram esses sintomas, os quais foram mais severos no mês de julho, seguido por setembro.

A condutância estomática das plantas de I. nil 'Scarlet O'Hara' foi maior no verão e menor no período de inverno e primavera. Sua relação com as concentrações de ozônio determinou um fluxo para o interior do tecido vegetal semelhante ao longo de todo o período de estudo.

Na estação de verão a maior média de condutância estomática (gs) foi verificada em janeiro. O fluxo de  $\text{O}_3$  para o interior da folha, apresentou oscilações acentuadas causadas tanto pela variação das concentrações de ozônio como pela de gs em todo o período.

No outono as maiores diferenças ocorreram no mês de junho. O fluxo de ozônio, entretanto apresentou as maiores médias em abril. Nos dias 11 e 13 de junho houve grande concentração do poluente na atmosfera e maior condutância.

No inverno, a variação de maior valor registrado em 11 de agosto e o menor, em 18 de julho. O fluxo de ozônio neste período também foi mais alto em 11 de agosto, entretanto, aparentemente não apresentou relação com as injúrias foliares. Isto pode ter sido provocado por uma maior atividade do sistema de defesa antioxidante, como comentam Orendovici - Best *et al.*, (2008).

Durante a primavera a (gs) variou durante a exposição sendo que nos dias 22 e 24 de outubro e 03 e 10 de dezembro foram registrados os maiores valores. O fluxo de  $\text{O}_3$  variou durante toda a exposição sendo o mês de dezembro o que apresentou maior variação.

A média da assimilação de carbono a densidade de fótons saturante (Asat) variou entre as estações, sendo mais alta

no verão. Essas oscilações nas médias de Asat eram esperadas uma vez que se trata de experimento conduzido em condições de campo em que vários fatores atuam em conjunto sobre os processos fisiológicos da espécie em estudo. Os valores obtidos, entretanto, estiveram abaixo do esperado para uma espécie herbácea em todas as estações. Possivelmente isso ocorreu porque as plantas cresceram sob sombrite e se aclimataram a uma condição de luminosidade mais baixa. Esperava-se que, no decorrer de cada período de 30 dias de exposição, a Asat fosse inicialmente alta, pois as plantas vinham de uma condição sem estresse, e diminuísse com o tempo de exposição ao poluente, mas esse padrão foi verificado apenas algumas vezes (março - abril, no verão, no outono todo, outubro - novembro, na primavera). Verificou-se que, no verão e primavera, as plantas reduziram Asat durante o período de maior fluxo de O<sub>3</sub>, mas o mesmo não ocorre no outono e no inverno quando valores altos de Asat foram observados no período em que o fluxo foi elevado. Uma visualização mais clara do conjunto dos resultados de Asat com relação às demais variáveis observadas é descrita a seguir.

A planta apresentou danos semelhantes aos observados nos experimentos em câmara de fumigação com O<sub>3</sub> para vários estresses. Não sendo possível relacionar as injúrias foliares com as causadas pelo poluente. Em campo I. nil 'Scarlet O'Hara' mostrou-se inadequada para o biomonitoramento. Os estudos de biomonitoramento no Brasil devem continuar buscando espécies nativas que sejam indicadoras de ozônio.

## CONCLUSÃO

Os resultados indicam que, embora os danos foliares observados fossem muito semelhantes aos induzidos pelo ozônio no experimento realizado em câmaras de fumigação fechadas por J. Nobre (não publicado), eles não podem ser atribuídos ao estresse induzido por este poluente. Em condições de campo I. nil 'Scarlet O'Hara' não se mostrou uma espécie adequada ao biomonitoramento. Pois sua sintomatologia aos diversos fatores de estresse presentes em condições de campo é praticamente a mesma que a apresentada ao O<sub>3</sub>. Ou seja, a espécie responde a vários estresses com sintomas foliares semelhantes aos de sua resposta ao O<sub>3</sub>, inviabilizando a avaliação qualitativa da presença do poluente no ar. Os estudos de biomonitoramento no Brasil devem continuar buscando espécies nativas que sejam indi-

cadoras de ozônio para com isso alcançar maior precisão e maior significado ecológico, como afirma Manning (2003). Agradecimentos

Os autores agradecem à FAPESP pela bolsa de iniciação científica a S.R.A.S. Viola (Proc.: 08/51537 - 6) e pelo auxílio ao projeto (Proc.: 05/51169 - 9)

## REFERÊNCIAS

- Ashmore, M. R. 2005. Assessing the future global impacts of ozone on vegetation. *Plant, Cell Environ.*, 28: 949 - 964.
- Conama, Conselho Nacional do Meio Ambiente. 1990. Resolução nº 03, 28 de junho de 1990.
- Dittmar, C., Pfaffelmoser, K., Rotzer, T., Elling, W. 2005. Quantifying ozone uptake and its effects on the stand level of common beech (*Fagus sylvatica* L.) in southern Germany.
- Farage, P.K., Long, S.P. 1999. The effects of ozone fumigation during leaf development on photosynthesis of wheat and pea: an in vivo analysis. *Photosyn. Res.*, 59: 1 - 7.
- Ferreira, M.L. 2007. O papel do ácido ascórbico na defesa de *Ipomoea nil* (L.) Roth cv. Scarlet O'Hara sob o efeito da poluição aérea. *Rev. Bras. Biociências* 5: supl. 2, 12 - 314.
- Fuhrer, J.; Skärby, L.; Ashmore, M.R. 1997. Critical levels for ozone effects on vegetation in Europe. *Environ. Pollut.* 97: 91 - 106.
- Rodriguez, J.L.C., Tascon, S.V. 2001. Impact of elevated ozone on chlorophyll a fluorescence in field grown oat. *Environ Exp Bot.*, 45: 133 - 142.
- Klumpp, A, Klumpp, G., Domingos, M. 1994. Plants as bioindicators of air pollution at the Serra do Mar near the industrial complex of Cubatão, Brazil. *Environ. Pollut.*, 85: 109 - 116.
- Manning, W.J. 2003. Detecting plant effects is necessary to give biological significance to ambient ozone monitoring data and predictive ozone standards. *Environ. Pollut.*, 126: 375 - 379.
- Nouchi, I & Aoki, K. 1979. Morning glory as photochemical oxidant indicator. *Environ. Pollut.*, 18: 289 - 303.
- Orendovici - Best, T., Skelly, J. M., Davis, D., Ferdinand, J. A., Savage, J., Stevenson, R. 2008. Ozone uptake (flux) as it relates to ozone - induced foliar symptoms of *Prunus serotina* and *Populus maximowizii*. *Environ. Pollut.*, 151: 79 - 92.
- Schaub, M., Bassin, S. & Kräuchi, N. 2001. Assessment of ozone visible injury on 16 ICP - forests level II Plots in Switzerland. [www.ozone.wsl.ch/lwf%20assess.pdf](http://www.ozone.wsl.ch/lwf%20assess.pdf) (acesso em 30.03.2008)