



DESENVOLVIMENTO DE UMA CÂMARA DE TOPO ABERTO PARA O ESTUDO DO EFEITO DE POLUENTES ATMOSFÉRICOS EM PLANTAS

A.M. Divan Junior¹ & C. C. Clebsch².

¹Laboratório de Bioindicação Vegetal, Centro de Ecologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. ²Pós-graduação em Ecologia, Departamento de Ecologia, Instituto de Biociências, UFRGS. Av. Bento Gonçalves, 9500, Prédio 43411, Sala 113. Caixa Postal 15007 91.501-970. Porto Alegre RS.

INTRODUÇÃO

O emprego da bioindicação, na avaliação de impacto e monitoramento da qualidade do ar, ainda é pouco utilizado no Brasil, devido ao escasso conhecimento sobre a sensibilidade das espécies tropicais e subtropicais a poluentes atmosféricos. O número de trabalhos publicados nesta área, realizados no Brasil, vem crescendo notadamente nos últimos anos, porém, a grande maioria dos grupos de pesquisa nesta temática ainda se baseia em estudos de campo, nos quais as plantas, a serem testadas, são expostas na área de influência de fontes emissoras de poluentes atmosféricos a distâncias crescentes do ponto de emissão. Esta abordagem, de fácil implementação, apresenta como inconvenientes a multiplicidade de variáveis não controladas e a possibilidade de sinergismo entre poluentes, que em condições naturais, raramente se apresentam isolados. Esta situação dificulta a atribuição inequívoca, das respostas encontradas, a um determinado poluente.

O ozônio (O_3) troposférico é um poluente fortemente oxidante associado a problemas respiratórios em seres humanos e a perda de produtividade de culturas agrícolas devido a redução na atividade fotossintética. Ele causa mais danos à vegetação, em todo o mundo, do que todos os demais poluentes somados (Elagöz & Manning, 2005). O O_3 é produzido na troposfera a partir de reações fotoquímicas no ar contaminado por óxidos de nitrogênio (NO_x) e hidrocarbonetos (HC). Devido à sua origem secundária e à disponibilidade crescente dos precursores (NO_x , HC), resultante do aumento contínuo da frota veicular, os autores acreditam que o O_3 apresente maior dificuldade de controle em regiões tropicais e subtropicais, em função da oferta abundante de radiação e das temperaturas elevadas, as quais influenciam os níveis máximos de concentração deste poluente.

Os níveis críticos atuais para proteção de culturas agrícolas, vegetação natural e espécies florestais

contra os efeitos adversos do O_3 são baseados em relações de dose-resposta derivadas principalmente de experimentos com câmaras de topo aberto (Grünhage *et al.*, 2003). Para aumentar o conhecimento a cerca de espécies tropicais e subtropicais com potencial bioindicador e sensíveis ao O_3 são necessários mais estudos sobre relações dose-resposta em condições controladas. Com o objetivo de desenvolver e construir um sistema de gaseificação de plantas com atmosferas enriquecidas com O_3 foi desenvolvido o presente trabalho.

MATERIAL E MÉTODOS

As Câmaras: Foram construídas com uma estrutura metálica externa em ferro chato galvanizado (1/8 x 1') constituída de quatro anéis de 0,90 m de diâmetro espaçados a cada 0,15 m. Um quinto anel, de 0,40 m de diâmetro, situado na parte superior da câmara e distando 0,70 m da base da câmara produzia um estreitamento da saída dos gases. Os cinco anéis foram mantidos unidos por quatro barras longitudinais. A superfície interna da estrutura metálica foi recoberta com uma película plástica transparente em PVC flexível (200 mm de espessura). Na porção inferior da câmara, a película plástica foi dobrada em parede dupla de modo a constituir uma bolsa de ar quando inflada. A parede interna da bolsa foi recoberta por 11 fileiras de orifícios de 0,5 cm de diâmetro separados a cada 4,0 cm, por onde passava o ar para o interior da câmara.

Suprimento de ar para as câmaras: Na porção lateral inferior da câmara foi acoplado, por meio de um duto de PVC rígido (0,30 m de comprimento por 0,30 m de diâmetro), um exaustor (Arge, modelo A-300), com uma vazão aproximada de 8,0 m³ h⁻¹. A velocidade do vento, provocado pelo fluxo de ar no interior da câmara foi mantida entre 0,5 e 1,0 m s⁻¹, de modo a minimizar o déficit hídrico nas plantas ocasionado por velocidades elevadas de vento (Tibbitts & Langhans, 1993).

Suprimento e monitoramento da concentração de ozônio: O O₃ foi produzido, por efeito corona, por um ozonizador (OZ Engenharia, modelo GHR150B), equipado com três células de produção de O₃ e produção nominal de 85 mg h⁻¹ por célula. O ozonizador foi acoplado ao duto de PVC por meio de uma tubulação em ABS e o O₃ formado foi misturado ao fluxo de ar do exaustor. Na extremidade da tubulação em ABS foi acoplado um pequeno tubo em PVC (40 mm de diâmetro) de modo a localizar o ponto de injeção do O₃ no centro da corrente de ar. No ponto de injeção do O₃ foi colocada uma placa plástica circular, como anteparo, de modo a propiciar turbulência e homogeneização da mistura de gases. A concentração de O₃ no interior das câmaras foi monitorada pelo método iodométrico (APHA, 1992). A amostragem dos gases foi realizada em frasco lavador do tipo “impinger” contendo 75 mL de solução absorvedora de KI 2% em um amostrador (LaMotte, modelo BD) a uma vazão de 1,5 L min⁻¹.

Espécie utilizada e análises realizadas: Foram utilizados os cultivares de *Phaseolus vulgaris* L. (Fepagro 26 e Iraí) em comparação com o cultivar reconhecidamente sensível ao O₃, US Pinto 111 (Arndt *et al.*, 1987). Plântulas de oito dias (estádio V₂, segundo Elagöz & Manning, 2005) foram submetidas aos tratamentos com e sem exposição ao O₃ nas câmaras, por uma semana com fumigação diária das 10:00 às 16:00 horas, ao término da qual foi feita a medição de curvas A/Ci nas folhas primárias com um analisador de gases por infravermelho (CIRAS 2, PPSsystems). Foram utilizadas 5 repetições de cada cultivar por tratamento.

Discos, extraídos das folhas primárias, foram lavados e incubados em água desionizada. Após 24 h de incubação a temperatura ambiente, a condutividade elétrica da solução foi medida em um condutivímetro (WTW, modelo LF197). Os discos foram então congelados em nitrogênio líquido e em seguida imersos em água desionizada por mais 24 h, após o qual a condutividade elétrica foi medida novamente. O vazamento relativo de eletrólitos foi calculado de acordo com Whitlow *et al.* (1992).

A abscisão foliar foi calculada a partir da média do número de dias após a exposição que as duas folhas primárias levaram para a cair.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Calibração das câmaras: Duas levadas de experimento foram realizadas. As concentrações mínima, média

e máxima, medidas na câmara fumigada da primeira leva, foram de 0, 33 e 59 ppbv, e 0, 42 e 117 ppbv na segunda leva correspondendo a uma exposição acumulada acima do limiar de 40 ppb (Grünhage *et al.*, 2003) de 154 ppb h e 587 ppb h, respectivamente. Não foi constatado O₃ na câmara controle.

Experimentos com plantas: A fotossíntese dos três cultivares de *P. vulgaris* apresentou respostas diferentes na exposição a 154 e 587 ppb h de O₃. A fotossíntese máxima dos cultivares Pinto (13,4 ± 0,7 mmol m⁻² s⁻¹ sem O₃ e 11,7 ± 3,1 mmol m⁻² s⁻¹ com O₃), Fepagro 26 (12,9 ± 0,7 mmol m⁻² s⁻¹ sem O₃ e 10,3 ± 1,1 mmol m⁻² s⁻¹ com O₃) e Iraí (12,2 ± 1,2 mmol m⁻² s⁻¹ sem O₃ e 11,7 ± 1,7 mmol m⁻² s⁻¹ com O₃) bem como a eficiência da carboxilação dos cultivares Pinto (0,169 ± 0,078 mol m⁻² s⁻¹ sem O₃ e 0,100 ± 0,094 mol m⁻² s⁻¹ com O₃), Fepagro 26 (0,148 ± 0,064 mol m⁻² s⁻¹ sem O₃ e 0,080 ± 0,035 mol m⁻² s⁻¹ com O₃) e Iraí (0,111 ± 0,029 mol m⁻² s⁻¹ sem O₃ e 0,119 ± 0,070 mol m⁻² s⁻¹ com O₃) não foram alteradas pela exposição a 154 ppb h de O₃. A fotossíntese máxima dos cultivares Fepagro 26 (6,5 ± 1,0 mmol m⁻² s⁻¹ sem O₃ e 5,6 ± 1,6 mmol m⁻² s⁻¹ com O₃) e Iraí (6,9 ± 0,8 mmol m⁻² s⁻¹ sem O₃ e 7,6 ± 1,5 mmol m⁻² s⁻¹ com O₃) não foi alterada pela exposição a 587 ppb h de O₃. A eficiência da carboxilação do cultivar Fepagro 26 foi significativamente reduzida (P < 0,05) de 0,125 ± 0,030 para 0,036 ± 0,010 mol m⁻² s⁻¹ nas plantas expostas a 587 ppb h de O₃. Porém, o cultivar Iraí não apresentou redução na eficiência da carboxilação (0,115 ± 0,032 mol m⁻² s⁻¹ sem O₃ e 0,049 ± 0,011 mol m⁻² s⁻¹ com O₃). O cultivar Pinto apresentou uma tendência de redução na eficiência da carboxilação e fotossíntese máxima que não pode ser comprovada pela análise estatística, devido a senescência precoce das plantas expostas a 587 ppb h de O₃. A redução na taxa carboxilativa decorrente da exposição ao O₃ pode ser explicada pela ação oxidativa de espécies reativas de oxigênio, resultantes da reação do O₃ com os constituintes do apoplasto, sobre as cadeias laterais de aminoácidos da rubisco. Uma vez oxidada, a enzima torna-se um alvo da ação de proteases (Leitao *et al.*, 2003).

A exposição a 154 ppb h de O₃ não produziu alteração no vazamento relativo de eletrólitos em nenhum cultivar. Porém, quando a concentração de O₃ foi elevada para 587 ppb h, o cultivar Pinto apresentou um aumento significativo (P < 0,05) no vazamento de eletrólitos em relação às plantas expostas na câmara controle (23,5 ± 1,7 % sem O₃ e 48,9 ± 9,3 % com O₃). As espécies reativas de oxigênio formadas no apoplasto podem, também, induzir a

peroxidação de lipídios afetando a estrutura e a integridade da membrana (Calatayud *et al.*, 2003) e levando a perda da função seletiva.

A exposição a 587 ppb h de O₃ antecipou a abscisão das folhas primárias dos cultivares Pinto em 11 dias (P < 0,01) e Fepagro 26 em 7 dias (P < 0,01) em relação às plantas expostas na câmara controle. O cultivar Irai não apresentou diferença no tempo de abscisão das folhas primárias expostas ao O₃ em relação às plantas expostas na câmara controle.

Os resultados obtidos ressaltam a importância de identificar pares apropriados de plantas ou cultivares sensíveis e tolerantes com graus bem definidos de sensibilidade ao O₃ que possam ser utilizados como sistemas de modelos (Elagöz & Manning, 2005) e na identificação dos fatores que conferem sensibilidade ou tolerância ao O₃.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a OZ Engenharia, a COPESUL pelo financiamento deste estudo e a CAPES.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Arndt, U., Nobel, W. & Schweizer, B. 1987. *Bioindikatoren: Möglichkeiten, Grenzen und neue Erkenntnisse.* Stuttgart: Ulmer.

APHA, 1992. *Standard methods for the examination of water and wastewater.* 18ed. Washington: American Public Health Association.

Calatayud, A., Iglesias, D.J., Tálon, M. & Barreno, E. 2003. Effects of 2-month ozone exposure in spinach leaves on photosynthesis, antioxidant systems and lipid peroxidation. *Plant Physiol. Biochem.*, **41**: 839-845.

Elagöz, V. & Manning, W.J. 2005. Responses of sensitive and tolerant bush beans (*Phaseolus vulgaris* L.) to ozone in open-top chambers are influenced by phenotypic differences, morphological characteristics, and the chamber environment. *Environ. Pollut.*, **136**: 371-383.

Grünhage, L. & Jäger, H.-J. 2003. From critical levels to critical loads for ozone: a discussion of a new experimental and modelling approach for establishing flux-response relationships for agricultural crops and native plant species. *Environ. Pollut.*, **125**: 99-110.

Leitao, L., Goulas, P. & Biolley, J.-P. 2003. Time-course of Rubisco oxidation in beans

(*Phaseolus vulgaris* L.) subjected to a long-term ozone stress. *Plant Sci.*, **165**: 613-620.

Whitlow, T.H., Bassuk, N.L., Ranney T.G., & Reichert, D.L. 1992. An improved method for using electrolyte leakage to assess membrane competence in plant tissues. *Plant Physiol.*, **98**: 198-205.

Tibbitts, T.W. & Langhans, R.W. 1993. Controlled-environment studies. In D.O. Hall, J.M.O Scurlock, H.R. Bolhàr-Nordenkamp, R.C. Leegood, S.P. Long (Eds.) *Photosynthesis and production in a changing environment.* London: Chapman & Hall. p. 65-78.