

DIRETORIA DE RECURSOS HÍDRICOS E ENGENHARIA AMBIENTAL

DEPARTAMENTO DE QUALIDADE AMBIENTAL

DIVISÃO DE QUALIDADE DO SOLO, ÁGUA SUBTERRÂNEA E VEGETAÇÃO

SETOR DE ECOSSISTEMAS TERRESTRES

**BIOMONITORAMENTO ATIVO DE OZÔNIO  
ATMOSFÉRICO COM UTILIZAÇÃO DA ESPÉCIE  
*Nicotiana tabacum L. Bel W3*  
JUNHO/99**

**RELATÓRIO PRELIMINAR**

## SUMÁRIO

O presente trabalho tem como objetivo principal rever a metodologia de uso da espécie *Nicotiana Tabacum* L. Bel W3 como bioindicadora de ozônio atmosférico. Adotou-se como estratégia, realizar os experimentos a partir da exposição de plantas em campo, associadas à realização de testes de fumigação das mesmas em laboratório.

Por se tratar de experimentos preliminares, o desenvolvimento da metodologia iniciou-se a partir de testes de germinação de sementes, em campânulas com atmosfera isenta de ozônio, nas quais foram desenvolvidas plantas a serem expostas em campo, para posterior avaliação de suas injúrias foliares, típicas de ozônio.

Os indivíduos foram expostos em pontos onde existem medições da qualidade do ar, pertencentes à rede telemétrica da CETESB, de forma a possibilitar a correlação entre as injúrias características de ozônio nos indivíduos expostos e as ocorrências de diferentes concentrações de ozônio atmosférico.

Mesmo sendo preliminares, os resultados confirmam os dados bibliográficos, que indicam concentrações danosas e aparecimento de injúrias características à partir de  $80 \mu\text{g}/\text{m}^3$ , concluindo-se que existe uma correlação estatisticamente significativa entre a média das porcentagens de injúrias em folhas de plantas expostas e os locais de exposição. Ressalta-se que as folhas localizadas na posição 2 (segunda folha mais próxima ao solo) apresentaram um coeficiente de correlação igual a 0,99, indicando, a priori, serem as melhores indicadoras do efeito de ozônio nas plantas.

A correlação entre a altura dos indivíduos expostos e o número de ocorrências de ozônio registradas durante o período de exposição nos diferentes locais apresentou um coeficiente de -0,67, indicando, preliminarmente, uma correlação inversa e moderadamente forte, que comprova a perda de biomassa pelo efeito do poluente, em plantas sensíveis.

## **Equipe Técnica**

Eng <sup>a</sup> Agr. Dione Zangelmi A. Pradella	EQSE
Biól. Márcio Rodrigues Lopes	EQSE
Estág. de Biol. Eunice R. Batista	EQSE
Estág. de Biol. Rui G. M. R. Santini	EQSE
Téc. Amb. José Bezerra de Sousa	EQSE
Geógr. Rosângela Pacini Modesto	EQSE
Quím. Maria Lucia G. Guardani	EQQA
Biól. Rodrigo Coelho Fialho	EQSE
Eng <sup>o</sup> Alfredo Carlos C. Rocca	EQS
Quím. Cláudio Darwin Alonso	EQ

## **Colaboradores**

Quím. Maria Helena R. B. Martins	EQQA
Biól. Sueli Pires Machado	EQSE
Téc. Químico Carlos R. Sacchi	EQQA
Desenhista Marisa Cury	EQS
Estat. Ana Truzzi	ERQL
Sec. Eunice de O. A. Puerto	EQS
Setor de Telemetria	EQQT
Setor de Amostragem e Análise do Ar	EQQA
Marisa Domingos	Ibt - Instituto de Botânica
Universidade Estadual da Carolina do Norte - USA	

## **1. INTRODUÇÃO**

O ozônio, componente da mistura de oxidantes fotoquímicos formados na atmosfera pela reação dos hidrocarbonetos e óxidos de nitrogênio na presença de luz solar, é nocivo à saúde humana e causa danos à vegetação.

Segundo GUDERIAN (1985), o ozônio troposférico é o maior componente do “smog” fotoquímico. Acredita-se que seja esse um dos mais importantes poluentes fitotóxicos.

Em revisão sobre poluição atmosférica e seus efeitos na vegetação (CETESB,1985), discorre-se sobre a formação das injúrias. As injúrias atribuídas ao ozônio são geralmente pequenas pontuações de coloração diferenciada, que podem ser necroses, cloroses ou se apresentar como manchas variegadas. Esses sintomas são resultantes dos seguintes eventos: interação do ozônio com alguns componentes da célula do tecido foliar; colapso da célula e água concentrada na vizinhança da interação; branqueamento da clorofila dentro da célula injuriada; colapso da estrutura foliar em torno da célula danificada.

Segundo Pell et al. (1997), esses agentes oxidantes penetram nos espaços intercelulares e reagem com compostos bioquímicos da parede celular e da membrana plasmática, desencadeando a formação de lesões necróticas foliares em casos de exposição aguda ou a senescência acelerada em casos de exposição crônica ao poluente.

Em nível celular, segundo o conceito de interação célula-célula dentro da folha, a morte da célula conduz, rapidamente, à morte de muitas células vizinhas (efeito amplificado). Tal fato deve-se ao desbalanço ion-água. O rombo produzido pelo ozônio em uma célula, com perda de água e de pressão, pode “sugar” a água das células vizinhas, através do plasmodesmo, causando injúrias em efeito cascata.

Desde 1962, a variedade de tabaco *Nicotiana tabacum* L. Bel- W3, tem sido usada em muitos países como um indicador da presença de diferentes concentrações de ozônio, apresentando, facilmente, sintomas reconhecíveis após algumas semanas de exposição de folhas novas, totalmente expandidas. Essa espécie desenvolve primeiramente lesões bifaciais e mostram diferenças nas quantidades de injúrias agudas e crônicas, quando expostas à diferentes doses de exposição em ambientes controlados e sob condições de campo (HEGGESTAD, 1991).

Além de *Nicotiana tabacum* L. Bel W3, outras espécies tem sido indicadas na literatura como sendo sensíveis ao ozônio, destacando-se entre elas o feijão *Phaseolus vulgaris* L. var. Pinto (feijão), o qual tem sido utilizado como bioindicador em diversos estudos de ozônio, apresentando injúrias visíveis após exposições de 196 µg/m<sup>3</sup> de ozônio por 2 a 3 horas.

O uso das referidas espécies em grande escala, como bioindicador de altas concentrações de ozônio tem contribuído para o incremento da advertência sobre os

efeitos deste poluente atmosférico, bem como para monitorar sua ocorrência a um baixo custo e com facilidade de utilização.

KRUPA et al (1994) cita que diversas investigações têm sido realizadas para entender a relação entre a concentração atmosférica de ozônio e a ocorrência de injúrias foliares agudas e crônicas, através de experimentos em campo e em laboratório.

Segundo GODZIK (1997), os níveis de ozônio atmosférico presentes no oeste europeu, tais como França, Suíça, ou Áustria, excedem com frequência os limites permitidos para este poluente. Nos países localizados na Europa central, como a Polônia por exemplo, as concentrações de poluentes estão entre as mais altas, principalmente devido à presença de grandes quantidades de óxidos de nitrogênio e outros precursores, advindos de fontes locais ou remotas. Estudos recentes na região de Krakow na Polônia (KRYWULT e GODZIK, 1995 in GODZIK, 1997), mostraram que durante o verão, a média diária para uma hora, das concentrações de ozônio, pode chegar a 230  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ .

Da mesma forma, tem sido realizados estudos da fitotoxicidade do ozônio, utilizando-se, principalmente, o tabaco como indicador de ozônio, na Espanha, Itália, Israel, URSS e varias regiões norte americanas (HEGGESTAD, 1991).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) recomenda como valor máximo para um período de 8 horas a concentração de 120  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  de ozônio para proteção da saúde humana, recomendação esta seguida pelos países do Oeste Europeu. Já a Polônia, situada no Leste Europeu, considera que em 30 minutos a concentração de ozônio atmosférico não deve exceder 100  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  (GODZIK, 1997).

No Brasil, também tem sido observada uma elevação nas concentrações de ozônio atmosférico nos grandes centros urbanizados, notadamente na Região Metropolitana de São Paulo (RMSP), Cubatão e interior de São Paulo (CETESB, 1996), onde o padrão legal de 160  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ , estabelecido no Decreto Estadual 8468/76 e na Resolução CONAMA 03/90 como valor máximo para um período de uma hora, tem sido diversas vezes ultrapassado, sobretudo nos meses de fevereiro a maio e agosto a dezembro. De acordo com a literatura internacional (ASHMORE e WILSON, 1994), o valor de concentração de 80  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  de ozônio é citado como aquele a partir do qual as injúrias podem ocorrer nas plantas de clima temperado.

Dentro desse contexto e seguindo a tendência internacional, o mapeamento das áreas com maiores níveis de ozônio atmosférico na RMSP é de grande importância, podendo servir tanto como subsídio às ações de controle, como na adequação das estações da Rede Telemétrica da CETESB, espalhadas pelo Estado, ou para a avaliação e diagnóstico de outros locais, indicando onde seria importante medir, com maior frequência, a variação local das concentrações desse poluente.

Os objetivos deste trabalho são :

- estabelecer uma metodologia de uso da espécie *Nicotiana tabacum* L. Bel- W3 (Tabaco), como espécie bioindicadora de ozônio;
- testar, paralelamente ao tabaco, outras espécies existentes no Brasil, sensíveis ao ozônio, como bioindicadores desse poluente atmosférico, incluindo os gêneros *Rhododendron* (azaléia), *Phaseolus* (feijão da variedade Pinto), entre outros e
- oferecer suporte às ações de avaliação da qualidade do ar, na CETESB, desenvolvendo instrumentos que possam embasar diagnósticos ambientais e monitoramentos, principalmente através de mapeamentos e indicações de áreas potencialmente poluídas, utilizando-se para isto uma ferramenta de baixo custo e de fácil aplicação, como é o caso dos bioindicadores vegetais.

## **2. METODOLOGIA**

O EQSE adotou como estratégia, desenvolver os experimentos a partir da exposição de plantas em campo, associadas à realização de testes de fumigação das mesmas em laboratório.

Quanto aos testes de fumigação, apesar de terem sido iniciados, ocorreu uma série de problemas metodológicos que dificultaram o desenvolvimento dos experimentos, seja devido à questões técnicas de operação e funcionamento da câmara de fumigação ou devido à interpretação dos resultados. Sendo assim, optou-se por retomá-los assim que houverem dados de campo e parâmetros eco-fisiológicos capazes de substanciar conclusões seguras, bem como dados técnicos para a construção de câmaras que permitam o desenvolvimento de experimentos em atmosfera realista.

Os resultados preliminares obtidos nestes testes iniciais de fumigação serão apresentados num próximo relatório.

### **2.1 Desenvolvimento dos Testes de Germinação e da Metodologia de Exposição**

No início de 1998, iniciaram-se no EQSE, campanhas de exposição de *Nicotiana tabacum* L. BelW3 como bioindicadora de ozônio, que se baseou em metodologia de campo, já adotada anteriormente (KLUMPP et al. 1994a e KLUMPP et al. 1994b).

As sementes foram importadas dos Estados Unidos pelo EQSE, através da Universidade Estadual da Carolina do Norte, com o objetivo de germiná-las e desenvolvê-las na própria CETESB, uma vez que é difícil sua obtenção.

Foram plantadas em substrato agrícola específico, "Plantmax", em sementeiras na casa de vegetação da CETESB.

A atmosfera no interior da casa de vegetação permaneceu em temperatura ambiente, sendo que o ar foi introduzido através de compressores, após ser filtrado em carvão ativado, a fim de não expor as mudas à atmosfera externa contaminada.

Primeiramente foi realizado um teste de germinação de sementes de tabaco, referidas acima, onde foi obtido 30% de germinação, após 7 dias. Dos 70% restantes, 60% germinaram em 10 dias e 10% não germinaram.

Esse fato demonstrou um elevado índice de germinação do lote utilizado, que quando aliado ao grande número de sementes por massa do mesmo (4.000 sementes/g), garante uma alta viabilidade de produção de mudas.

Após um curto período, variando entre 20 e 30 dias, as plântulas foram transplantadas para vaso de plástico com 20 cm de diâmetro e após apresentarem 4 pares de folhas definitivas, as plantas foram consideradas adequadas para serem expostas.

Durante a exposição, as plantas permaneceram em bandeja de PVC, contando com sistema de auto rega, similar ao já utilizado pelo EQSE em outros trabalhos de bioindicação.

Adicionalmente, foi construída uma estrutura apropriada, constituída de tubos de PVC e sombrite, para controlar a intensidade de luz no local da exposição, possuindo 3 lados fechados com sombrite e abertura voltada para face sul.

No decorrer do período de exposição, o monitoramento das mudas foi feito semanalmente, sendo que após 28 dias as plantas foram retiradas de campo e levadas ao laboratório para posterior avaliação.

## **2.2 Critérios de Avaliação**

As plantas foram observadas e fotografadas, antes e após a exposição. A avaliação do efeito do poluente nas plantas bioindicadoras foi feita por uma estimativa quantitativa dos sintomas de injúrias visíveis. A análise, de caráter visual e através da percentagem de injúrias foliares, foi comparada aos dados obtidos nas estações da rede telemétrica de monitoramento da qualidade do ar da CETESB, pretendendo-se estabelecer assim, uma relação entre as concentrações de ozônio e injúrias foliares.

Para se estimar a concentração atmosférica de O<sub>3</sub> com o uso de bioindicadores destacam-se duas diferentes metodologias: uma baseada na determinação química dos teores foliares de açúcares solúveis totais ou individuais, como é o caso do açúcar mioinositol (BUCKER et al., 1995) e outra baseada na área foliar injuriada por esse elemento (HEGGESTAD, 1991; ASHMORE et al., 1980; GODZIK, 1997; entre outros).

A metodologia para determinação de açúcares solúveis (BUCKER & BALLACH, 1992; FIALHO & BUCKER, 1996) é trabalhosa e envolve equipamentos como High Performance Liquid Chromatography (HPLC), que demanda tempo longo para análise de cada uma das amostras, o que impediria o trabalho com grande número de amostras.

Já a metodologia baseada na medição da área foliar injuriada, que consiste na exposição de plantas sensíveis aos poluentes oxidantes e conseguinte avaliação da extensão do dano foliar, mostra-se mais exequível, além de possibilitar a obtenção de uma quantidade maior de dados.

Tanto a primeira (metodologia analítica) como a segunda (avaliação visual), podem fornecer uma estimativa da concentração de poluentes oxidantes atmosféricos locais, a partir da comparações com dados de diversas variáveis atmosféricas fornecidas pela Rede Telemétrica da CETESB.

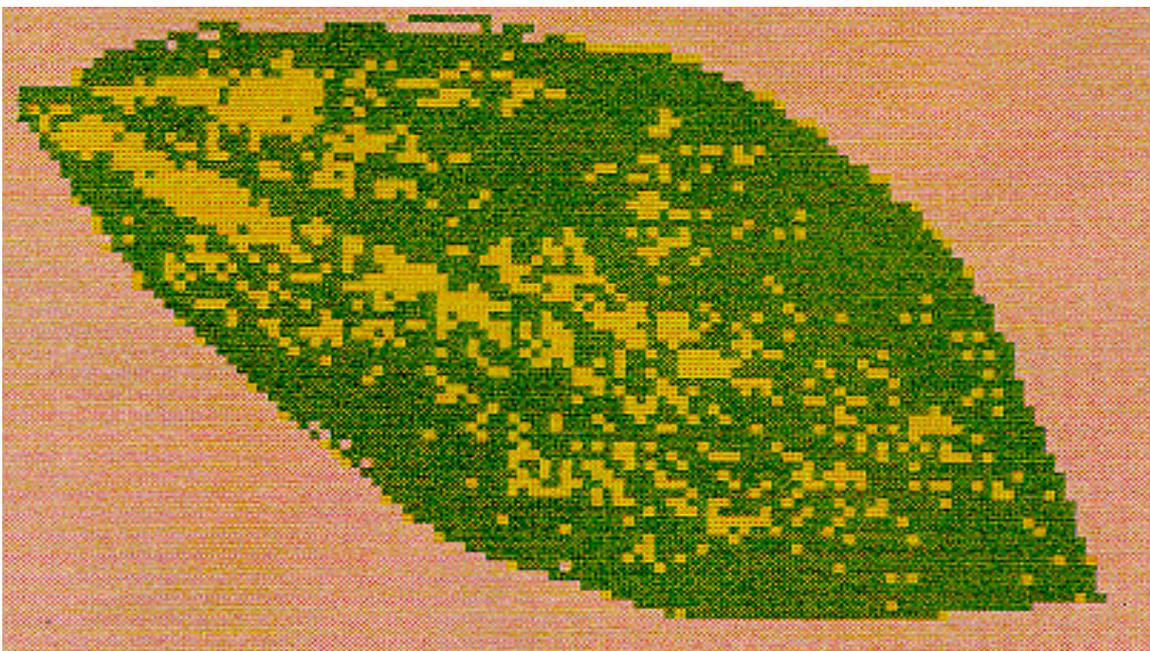
Optou-se dada a sua praticidade e viabilidade, pela metodologia de avaliação das injúrias foliares.

A fim de evitar interferências subjetivas na avaliação das porcentagens de injúrias foliares, por parte do avaliador, foi desenvolvida uma metodologia que pudesse garantir a possibilidade de comparação de resultados entre diversas campanhas.

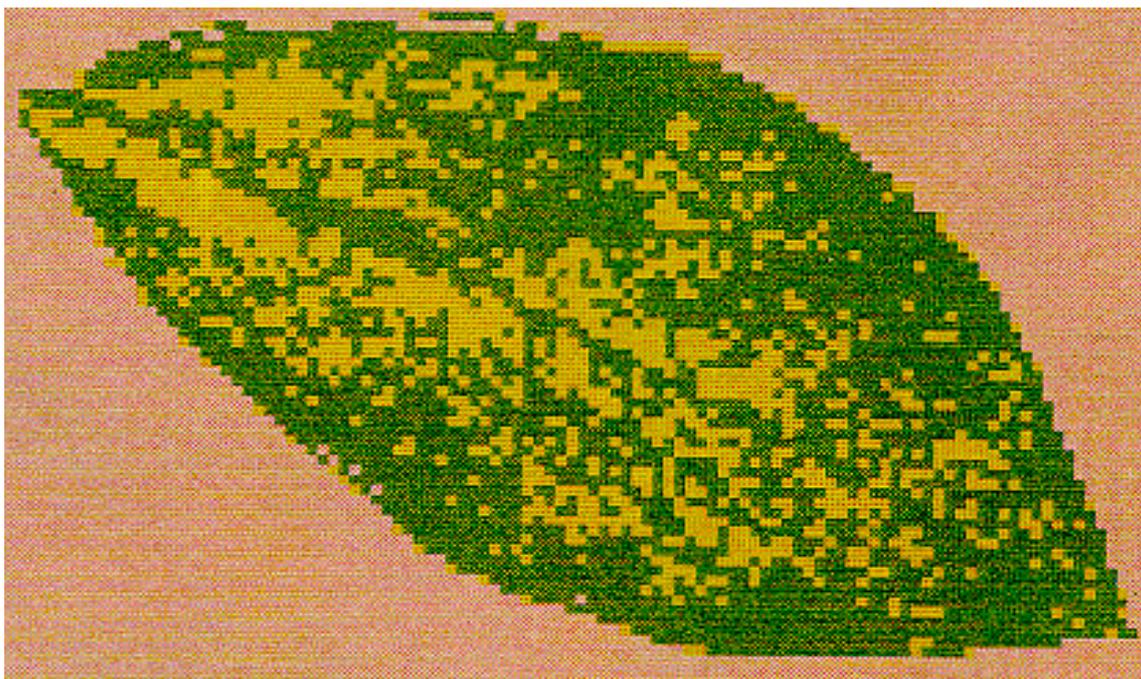
Esses valores percentuais de área foliar injuriada são estimados pela comparação das folhas com padrões previamente definidos, os quais consistem de um conjunto de fotos de folhas com níveis conhecidos de diferentes áreas danificadas, calculadas pelo Sistema de Informação Geográfica - IDRISI, conforme ilustram as figuras 1, 2, 3 e 4.

Cada folha é submetida à avaliação simultânea de duas ou três equipes, as quais atribuem valores percentuais de área foliar danificada.

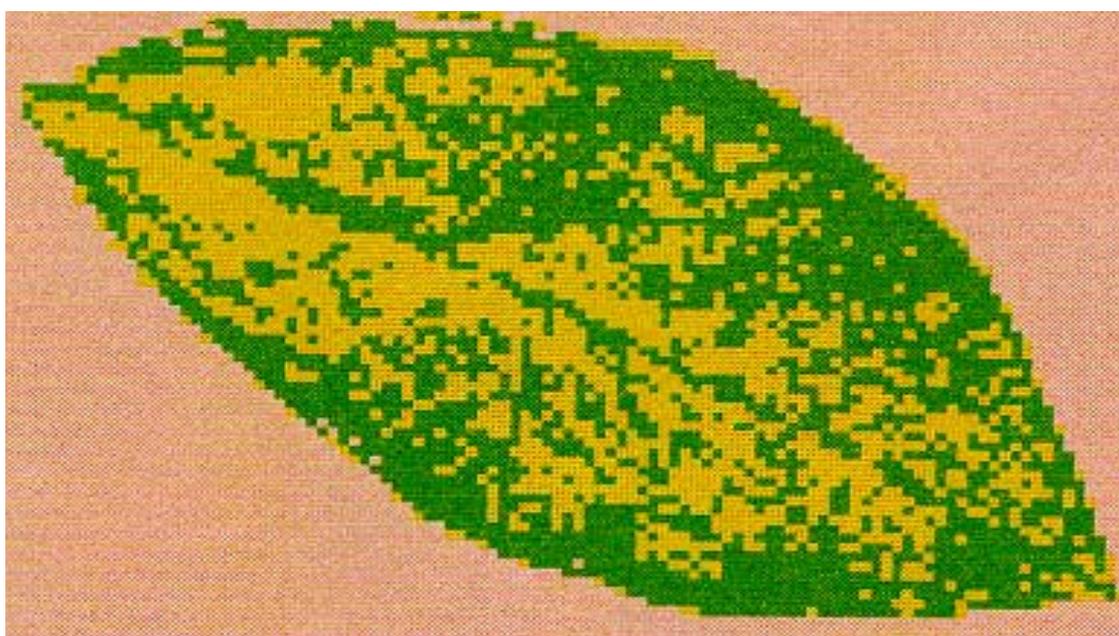
A partir dos valores percentuais de injúrias estimados pelas equipes, são calculados valores percentuais médios de injúrias para cada folha de cada planta.



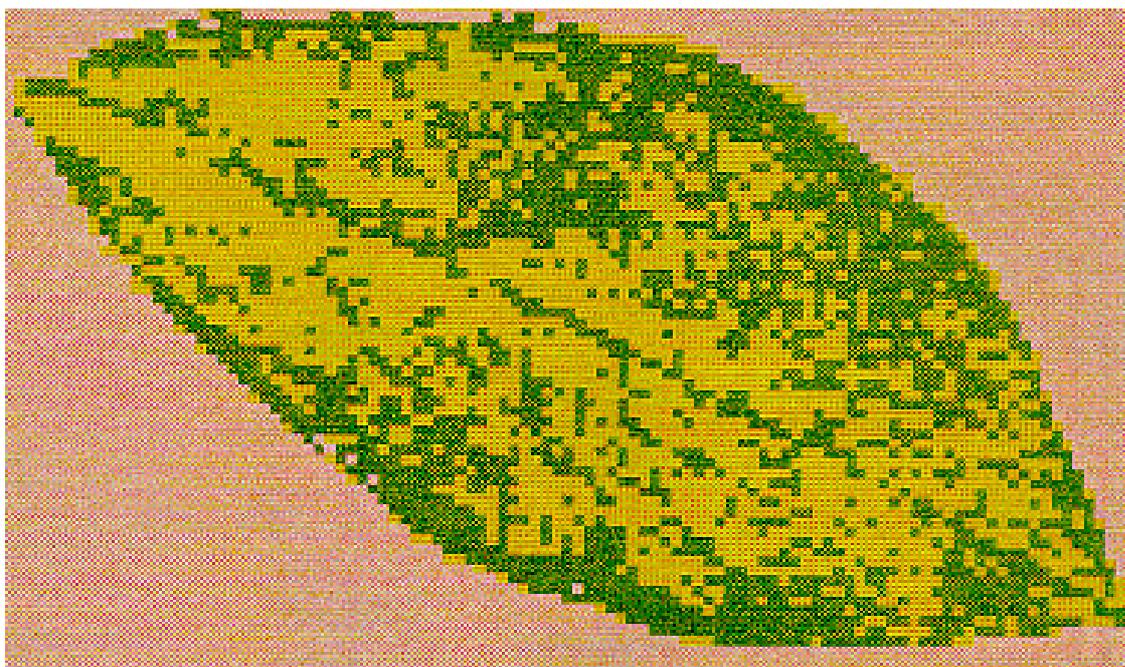
**Figura 1 - Folha de azaléia tratada através do software IDRISI, com 21% de injúrias (em amarelo)**



**Figura 2 - Folha de azaléia tratada através do software IDRISI, com 30% de injúria (em amarelo)**



**Figura 3 - Folha de azaléia tratada através do software IDRISI, com 42% de injúrias (em amarelo)**



**Figura 4 - Folha de azaléia tratada através do software IDRISI, com 52% de injúrias (em amarelo)**

## **2.3 Experimentos de Campo**

Em 1998 foram concluídas duas campanhas de campo, realizadas nos períodos de maio-junho/98 e junho-agosto/98.

Juntamente ao tabaco, expôs-se, na primeira campanha (maio-junho/98), a planta ornamental azalea, que foi testada paralelamente, como espécie bioindicadora de ozônio, por constar na literatura, como espécie sensível e por terem sido constadas injúrias, semelhantes às atribuídas ao ozônio, em folhas dessa espécie em local de pico de concentração desse poluente atmosférico na RMSP.

A exposição em campo da azaléia foi interrompida, uma vez que esta espécie não apresentou qualquer resultado visualmente perceptível durante a exposição de um período de 28 dias.

### **2.3.1. Campanha de Maio-Junho/98**

Plantas de *Nicotiana tabacum* L. Bel W3, desenvolvidas conforme metodologia descrita no item 2.1., foram levadas a campo na semana de 27/4/98, juntamente com mudas de azalea, adquiridas no CEAGESP.

Neste período, foram utilizados 16 pontos que contemplaram a Região Metropolitana de São Paulo e o eixo Santos/Cubatão, os quais apresentam, a princípio, diferentes concentrações atmosféricas desse poluente.

Para a seleção desses locais foi realizada uma visita de alguns pontos pertencentes à rede telemétrica na RMSP. Decidiu-se então iniciar a exposição em 7 pontos da rede, quais sejam: estações de Osasco, Ibirapuera, Congonhas, Cubatão-Centro, Mauá, Lapa e Mooca, além de 9 pontos, selecionados em função da existência de indícios da ocorrência de ozônio: CETESB-sede, Alphaville, Santos-origem, Santos-centro, Cubatão-Casqueiro, Paranapiacaba, Instituto de Botânica, Ribeirão Pires e Barragem da Pedras.

Monitoramentos quinzenais, realizados para avaliar a porcentagem de injúrias foliares, revelaram que na segunda semana de exposição, apareceram sintomas considerados característicos desse poluente.

Após um mês de exposição, essas plantas foram fotografadas e retiradas de campo, de onde se extraíram as observações a serem descritas no item 3.

### **2.3.2 Campanha de Julho-Agosto/98**

No período de 14/07/98 a 13/08/98 foram expostas, segundo a metodologia descrita anteriormente, plantas de *Nicotiana tabacum* L. Bel W3, em 7 estações da rede telemétrica de monitoramento da qualidade do ar na RMSP e Cubatão, a saber: Ibirapuera, Mauá, Lapa, Mooca, Congonhas, Osasco e Cubatão (Centro).

Em cada ponto foram expostos 6 indivíduos de *Nicotiana tabacum* Bel-W3, os quais foram avaliados semanalmente quanto ao surgimento e evolução de injúrias foliares. Após 28 dias de exposição, as plantas foram recolhidas à casa de vegetação do EQSE e, em seguida, avaliadas para quantificação de injúrias visíveis.

Nesta campanha, foi também medida a altura de cada planta, após o experimento, tomando-se como referência a distância entre a base do caule, junto ao solo, e a gema apical.

### **3. RESULTADOS**

#### **Campanha de Campo e Maio-Junho/98**

##### **Qualidade do Ar no Período**

Foram enfocados, além do ozônio ( $O_3$ ), outros poluentes de interesse, tais como dióxido de nitrogênio ( $NO_2$ ) por ser um precursor da formação do ozônio, partículas inaláveis (PI) e dióxido de enxofre ( $SO_2$ ), para verificar a possibilidade de ocorrência de efeitos sinérgicos dos poluentes sobre as plantas.

Os dados de qualidade do ar obtidos nas estações da Rede Telemétrica no período em que as plantas estiveram expostas no campo (27/04 a 27/05 de 1998) são apresentados no anexo 1, na forma de gráficos, onde se comparam os níveis de concentração de determinado poluente em todas as estações telemétricas em que foi medido.

Os padrões indicados nos gráficos são aqueles estabelecidos legalmente para os poluentes ozônio, dióxido de enxofre, dióxido de nitrogênio e partículas inaláveis.

No que se refere ao  $NO_2$  as maiores concentrações foram observadas em Congonhas ( $392 \mu g/m^3$ ), sendo a única estação em que o padrão de  $320 \mu g/m^3$ , estabelecido como valor médio num período de 1 hora, para proteção da saúde humana foi ultrapassado, seguido das estações Ibirapuera ( $258 \mu g/m^3$ ) e Osasco ( $182 \mu g/m^3$ ), onde o padrão não foi ultrapassado.

Quanto à PI, cujo padrão é de  $150 \mu g/m^3$ , como valor médio em 24 horas, para proteção da saúde humana, observou-se as maiores concentrações em Osasco ( $151 \mu g/m^3$ ) e Congonhas ( $133 \mu g/m^3$ ).

A variação do  $O_3$  observada em cada uma das estações indica picos de concentrações iguais ou superiores ao padrão de  $160 \mu g/m^3$ , estabelecido como valor máximo para um período de 1 hora, para proteção da saúde humana. Verificou-se que as concentrações mais altas, ocorreram com maior frequência em Mauá ( $161,6 \mu g/m^3$ ), Ibirapuera ( $209,5 \mu g/m^3$ ) e Congonhas ( $185,4 \mu g/m^3$ ).

Quanto ao  $SO_2$  observou-se valores muito aquém do padrão de  $365 \mu g/m^3$  estabelecido como valor médio num período de 24 horas, para proteção da saúde humana.

##### **3.1.2. Observação de Injúrias Foliares**

A campanha de maio/98 teve como objetivo principal constatar em campo as injúrias descritas em literatura, conhecidas como pontos cloróticos que evoluem para pontos necróticos.

De uma forma geral, as mudas de azaléa se apresentaram sem injúrias visíveis, após o período de exposição, razão pela qual não foram contempladas na avaliação do efeito da poluição sobre esta espécie. Apenas em Paranapiacaba, as folhas mostraram seus ápices necrosados.

Já as mudas de tabaco apresentaram injúrias mais homogêneas, conforme o padrão descrito a seguir, na tabela 1, podendo ser melhor visualizado nas figuras do anexo 2, não tendo sido contemplado, no entanto, o cálculo das porcentagens de área injuriada.

Tabela 1 - Observações de injúrias foliares da campanha de maio/98

Local	Nº de mudas expostas	Desenvolvimento da muda	Injúrias Características do efeito de ozônio	Observações
Ibirapuera	3	pequeno	++	
Mauá	3	pequeno	+++	presença de lesões por herbivoria
Lapa	3	grande	+	presença de lesões por herbivoria
Mooca	3	grande	++	injúrias presentes nas folhas mais velhas
Congonhas	3	grande	+	injúrias presentes nas folhas mais velhas
Osasco	3	grande	+	injúrias presentes nas folhas mais velhas
Santos - Centro	3	grande	++	
Santos - Orla	3	pequeno	+	
Cubatão - Casqueiro	3	grande	+	injúrias presentes nas folhas mais velhas
Paranapiacaba	3	pequeno	++++	
Inst. Botânica	3	pequeno	++++	
Ribeirão Pires	3	médio	0	
Barragem das Pedras	1	pequeno	++	ocorrência de ventos fortes causando a morte de 2 indivíduos
Alphaville	3	grande	+	presença de pontos cloróticos
CETESB - Sede	3	grande	0+	

0 sem injúria      + muito pouca injúria      ++ pouca injúria      +++ com injúria      ++++ com muita injúria

Pelos resultados obtidos, conclui-se preliminarmente que a espécie estudada reproduz, de fato, os sintomas descritos em literatura como injúrias características do efeito de ozônio, quando expostas em campo a este poluente.

## 3.2 Campanha de Campo em Julho/Agosto/98

### 3.2.1 Qualidade do Ar no Período

A variação horária das concentrações dos poluentes atmosféricos, temperatura e umidade relativa, nas diferentes estações telemétricas em que foram expostos os bioindicadores, durante o período de 14/07/98 a 13/08/98 está apresentada nas figuras do anexo 3.

### 3.2.2 Observação de Injúrias Foliares

A figura 5 resume os resultados de injúrias foliares obtidos. Conforme pode ser observado ocorreram diferentes percentuais de injúrias típicas de ozônio nos locais de exposição e nas diferentes folhas dos indivíduos expostos.

Para a avaliação foram selecionadas, em cada planta, as 4 folhas mais velhas, numeradas de 1 a 4, de baixo para cima, ou seja, a folha de número 1 é a posição mais próxima do solo do vaso e a de número 4 a mais distante.

Cada indivíduo foi avaliado separadamente, folha a folha, de forma a distinguir quais delas apresentaram maior quantidade de injúrias visíveis, após o que, foram calculadas médias para cada posição em cada local de exposição.

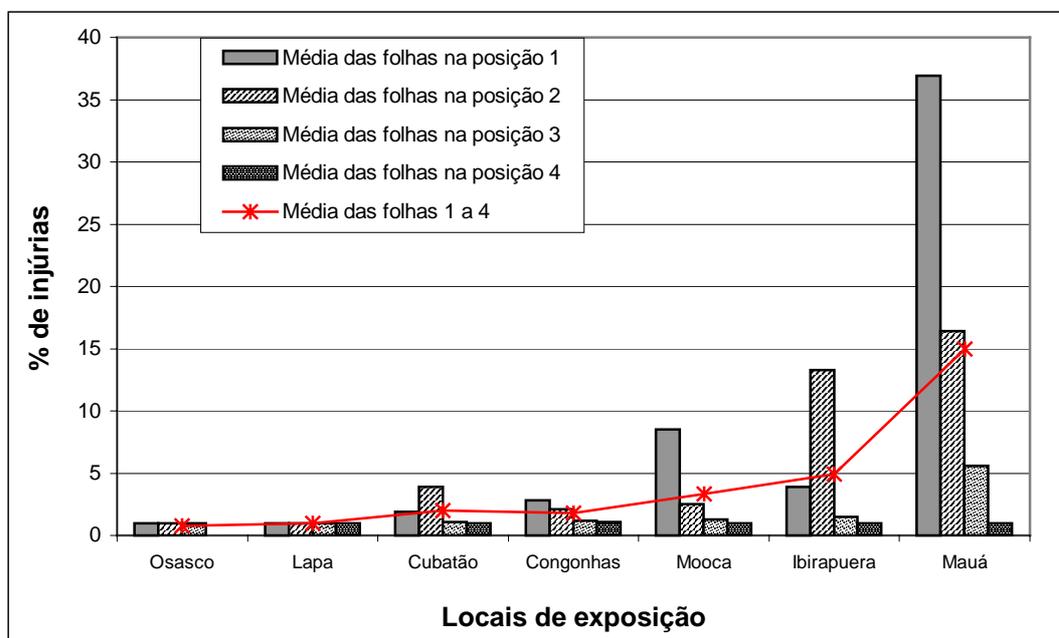


Figura 5 - Comparação de valores médios de % de injúrias entre folhas das plantas expostas em diferentes estações telemétricas.

Quando as plantas apresentaram uma quantidade muito pequena de injúrias visíveis os valores foram considerados 1%.

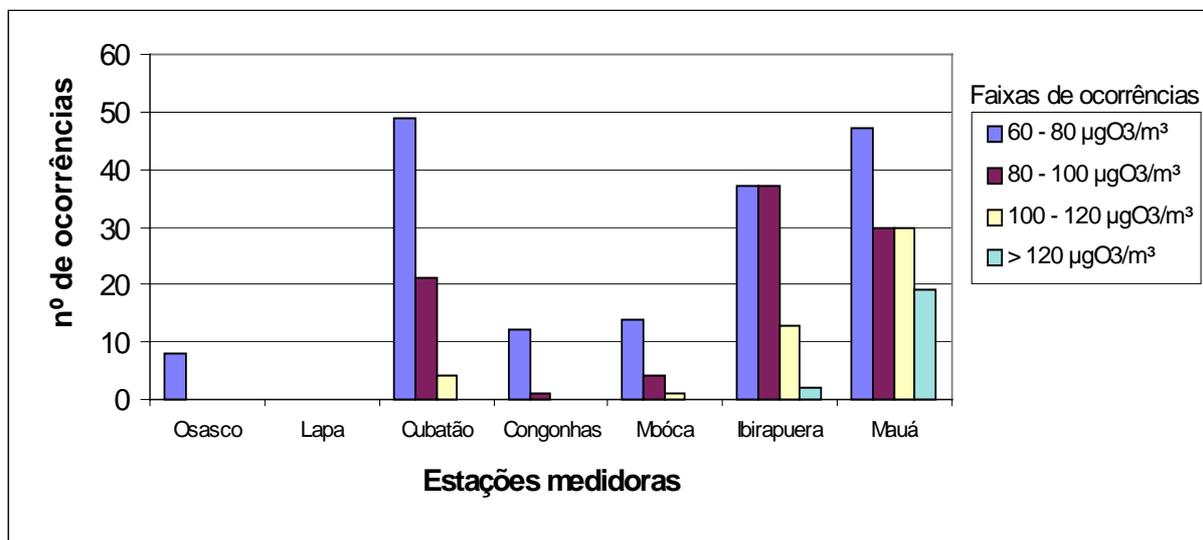
Comparativamente, a estação de Mauá foi a que apresentou a maior quantidade de injúrias, seguida das estações Ibirapuera e Mooca. As demais, ou seja, Cubatão, Congonhas, Lapa e Osasco, foram consideradas semelhantes, principalmente por tratar-se de uma avaliação subjetiva, apesar de apresentarem pequenas variações de quantidade de injúrias.

No que se refere à posição da folha na planta, as mais velhas, ou seja, aquelas mais próximas do solo, foram as que apresentaram, no geral, os maiores índices de injúrias, os quais foram decrescendo de acordo com a idade ou a posição na planta.

As injúrias apareceram, na grande maioria, até as folhas na posição 4, sendo que as folhas nas posições 1, 2 e 3 foram as que apresentaram injúrias mais expressivas.

As plantas mais injuriadas foram também as que apresentaram alturas menores, indicando interferências da exposição na produção de biomassa.

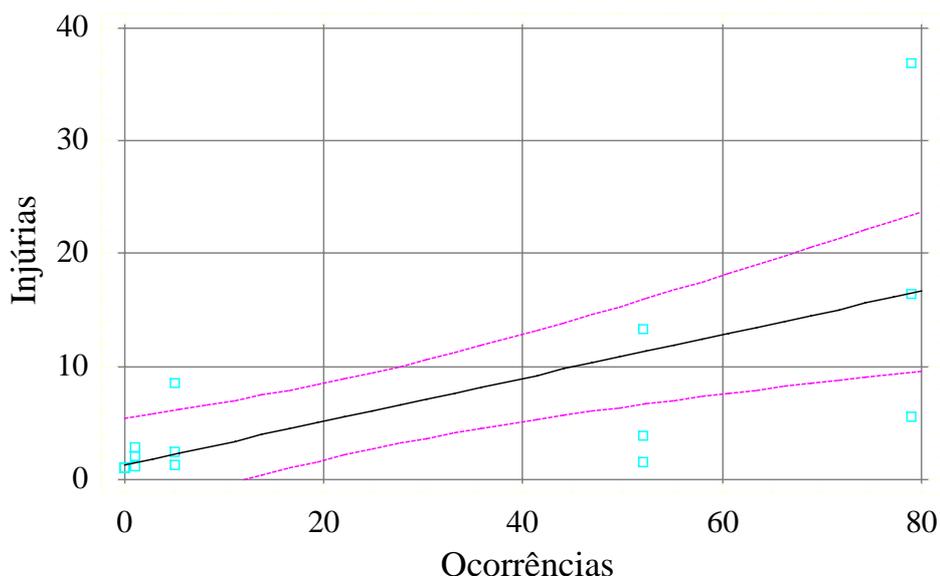
De forma a facilitar a interpretação dos resultados, a figura 6 apresenta os dados de ocorrência de ozônio, separados por número de ocorrência em diferentes faixas de concentração, durante o período em que as plantas de Tabaco ficaram expostas.



**Figura 6 - Número de ocorrência de ozônio por faixas de concentração durante o período de exposição dos indivíduos de tabaco.**

Dentre os resultados obtidos nota-se que , com exceção de Cubatão, houve uma visível correlação entre o aparecimento de injúrias e o número de ocorrências de concentrações de ozônio, principalmente nas faixas de concentrações acima de 80µg/m<sup>3</sup>.

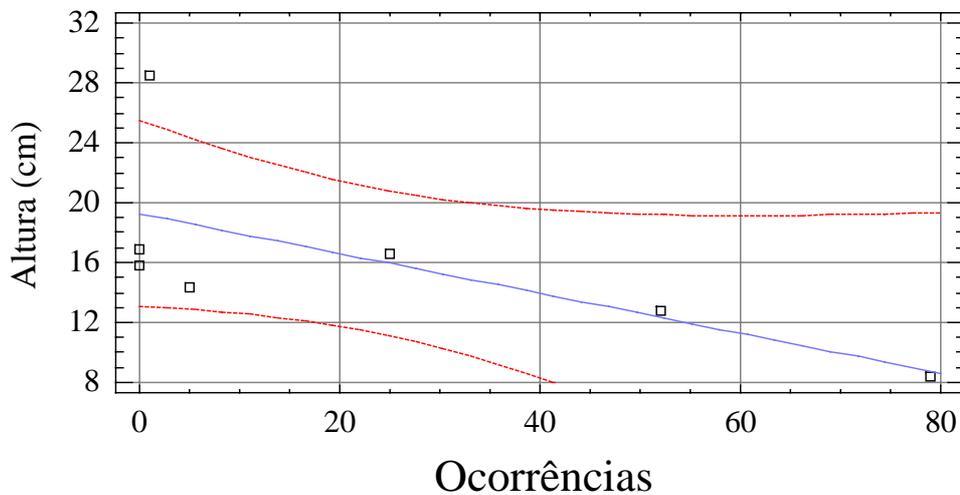
A fim de confirmar os resultados, foi realizada uma análise de correlação, e de acordo com o tratamento estatístico realizado, pôde-se verificar que a correlação entre a média de porcentagem de injúrias das folhas nas 3 primeiras posições conjuntamente, e a ocorrência de concentrações de ozônio acima de  $80 \mu\text{g}/\text{m}^3$  nos locais de exposição apresentou um coeficiente igual a 0.68 ( $p < 0,01$ ), indicando uma correlação estatística moderadamente forte, ou seja, uma tendência de correlação estatisticamente significativa entre estas variáveis (Fig. 7).



**Figura 7 - Correlação entre a média da % de injúria das folhas das 3 primeiras posições e o número de ocorrências de  $\text{O}_3$  acima de  $80 \mu\text{g}/\text{m}^3$  em um período de 28 dias**

No que se refere ao tratamento estatístico separando folhas de posição a posição, as folhas das posições 1, 2 e 3 apresentaram uma tendência de correlação estatisticamente significativa entre as variáveis.

A correlação entre a altura dos indivíduos expostos e o número de ocorrências de concentrações de ozônio acima de  $80 \mu\text{g}/\text{m}^3$  registradas durante o período de exposição nos diferentes locais, apresentou um coeficiente de -0.67 ( $p < 0,1$ ), indicando uma correlação inversa e moderadamente forte, ou seja, existe uma tendência de que quanto maior os níveis de concentração de  $\text{O}_3$  atmosférico, menor o crescimento da planta em altura (Fig. 8).



**Figura 8 - Correlação entre a média das alturas dos indivíduos expostos e o número de ultrapassagens de ozônio (acima de  $80\mu\text{g}/\text{m}^3$ ) registradas durante o período de exposição nos diferentes locais**

No intuito de verificar a significância estatística das diferenças observadas entre os locais de exposição, no que se refere ao aparecimento de injúrias visíveis, foi utilizada a técnica de análise de variância não paramétrica de Kruskal-Wallis e teste de comparações múltiplas (Neter, 1985). Esta técnica foi empregada sobretudo devido ao pequeno tamanho da amostra. Os resultados estão indicados na tabela 2.

Ressalta-se que Cubatão, por possuir fatores ambientais distintos, tais como umidade, altitude, presença de spray marinho, coquetel de poluentes atmosféricos, entre outros, não foi contemplado na análise estatística.

Tabela 2 – Resultados do Teste de Kruskal-Wallis

POSIÇÃO DAS FOLHAS	NÍVEL DESCRITIVO DO TESTE	DIFERENÇAS ESTATISTICAMENTE SIGNIFICATIVAS
1, 2 e 3	$p < 0,15$	Congonhas # Mauá Ibirapuera # Mauá Mooca # Mauá Osasco # Mauá Lapa # Mauá Ibirapuera # Osasco
1	$p < 0,15$	Lapa # Mauá Osasco # Mauá
2	$p < 0,15$	Lapa # Mauá Osasco # Mauá
3	$p < 0,15$	Mooca # Mauá Osasco # Mauá Lapa # Mauá

O teste realizado, para as três primeira folhas, indica que a estação de Mauá apresentou diferenças significativas quando comparadas com as demais estações, principalmente quando analisadas as folhas de forma conjunta.

Para ilustrar os resultados obtidos, as figuras 12 à 15 apresentam, através de diagramas tipo “box-plot”, uma análise descritiva das porcentagens de injúria foliar observadas nos locais estudados, de forma conjunta (folhas 1, 2 e 3) e individual, de folha a folha.

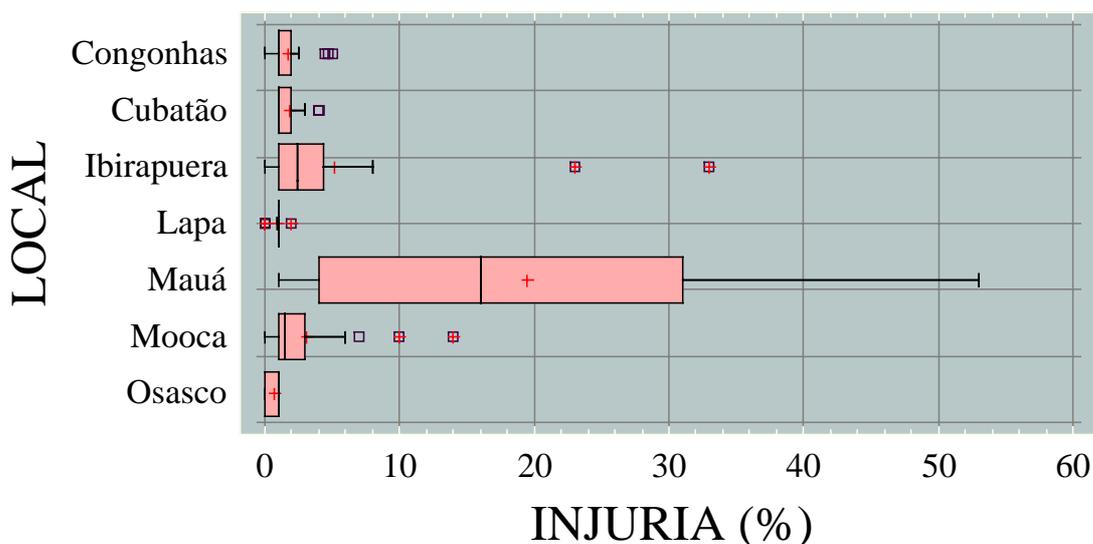


Figura 9 - Diagrama “box-plot” para as folhas das posições 1 a 3

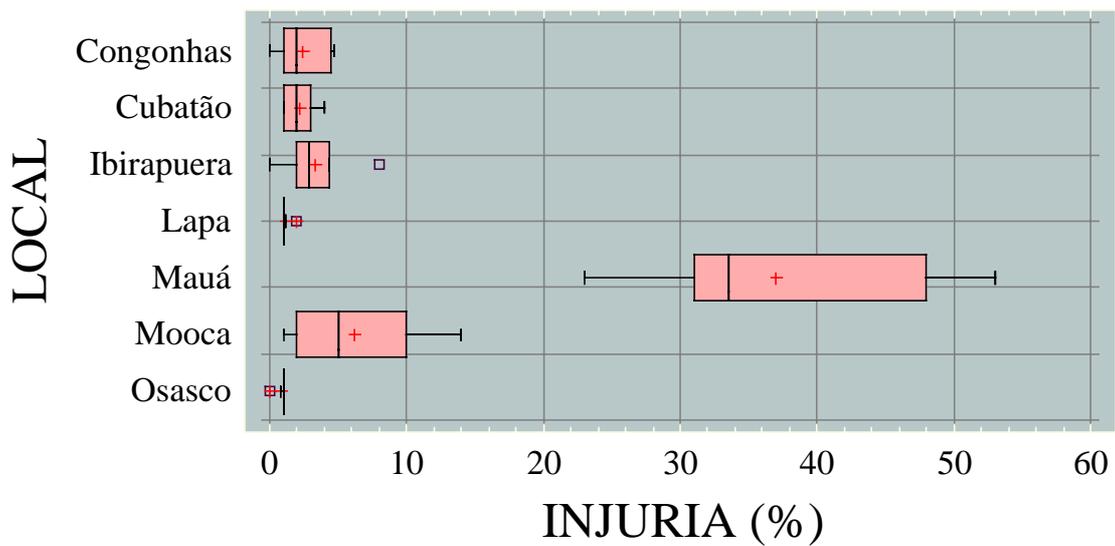


Figura 10 - Diagrama "box-plot" para as folhas da posição 1

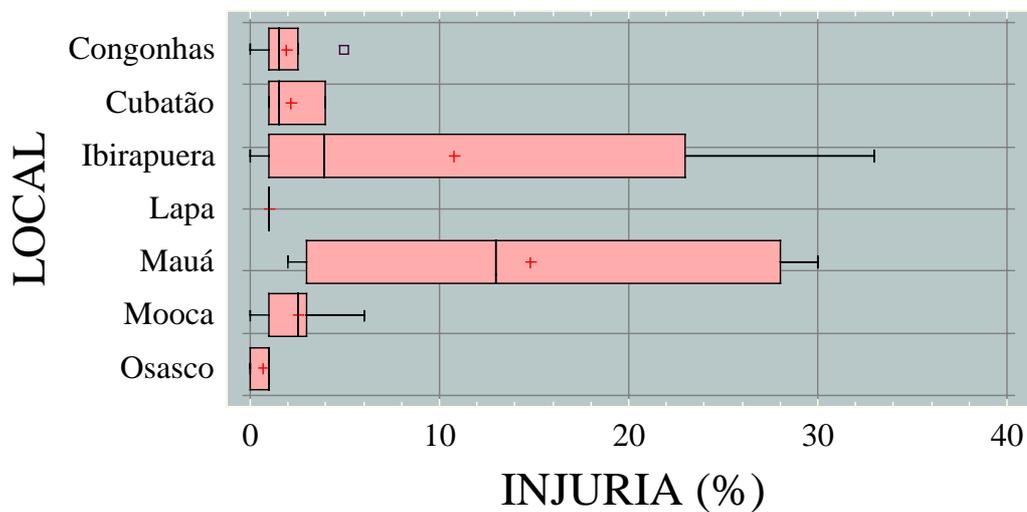
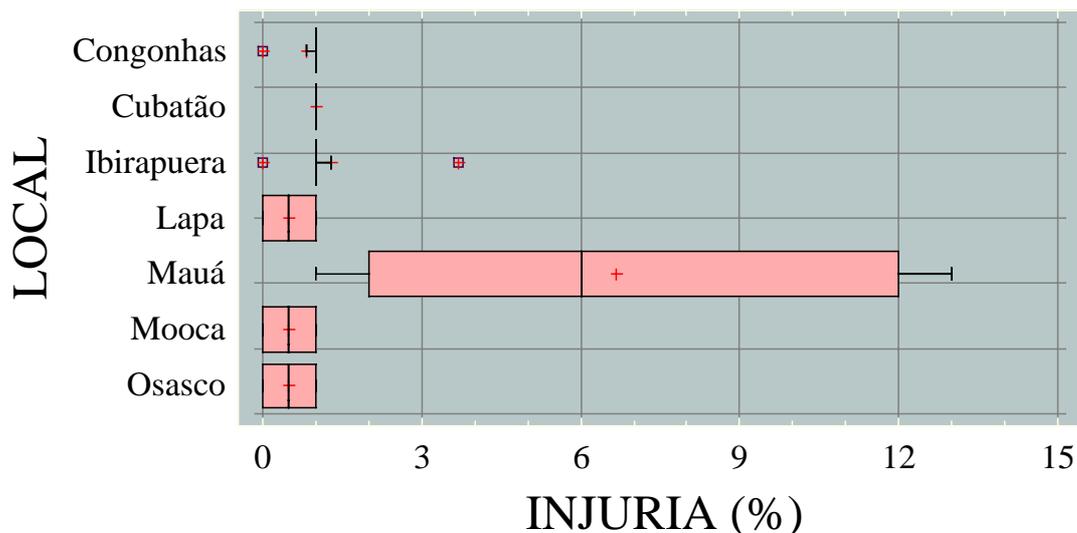


Figura 11 - Diagrama "box-plot" para as folhas da posição 2



**Figura 12 - Diagrama “box plot” para as folhas da posição 3**

Ressalta-se que o teste refere-se à comparação da injúria versus o local, independente dos níveis de ozônio ocorrentes em cada local.

Desta forma, verificou-se, preliminarmente, que o Tabaco foi significativamente mais afetado em Mauá, local este onde constatou-se maiores concentrações atmosféricas deste poluente durante o período de exposição.

Os resultados permitem concluir que, conforme esperado, a espécie *Nicotiana tabacum* L. Bel W3, quando utilizada como bioindicador do ozônio atmosférico, pode constituir-se uma ferramenta de apoio as ações de controle e elaboração de diagnósticos, sendo necessário, apenas, cautela durante a interpretação dos resultados, uma vez que ainda deve ser realizado um maior número de repetições do experimento, a fim de aumentar o grau de confiabilidade e segurança na discussão dos resultados.

Destaca-se, por fim, que os resultados confirmam os dados bibliográficos, os quais indicam concentrações danosas à partir de  $80\mu\text{g}/\text{m}^3$ , considerando que abaixo deste nível não foi possível detectar correlações com injúrias.

#### **4. PERSPECTIVAS FUTURAS**

No intuito de confirmar os resultados e aprimorar a metodologia, tanto no que se refere ao cultivo como à exposição e a avaliação dos resultados, estão previstas novas exposições, realizadas nos mesmos moldes.

Uma vez estabelecida a metodologia de monitoramento, é possível a realização de mapeamentos em áreas potencialmente afetadas por ozônio, principalmente na RMSP, tal como já realizado em outros países.

Pretende-se ainda aumentar o número de espécies em exposições futuras, incluindo aquelas já citadas em literatura e utilizadas em culturas agrícolas, a fim de se criar mecanismos para estimar as perdas agrícolas em função da exposição de culturas a altas concentrações de ozônio.

Ainda dentro deste contexto, será incorporada a medição de biomassa, tanto foliar como radicular e dos caules, no intuito de dimensionar os efeitos do ozônio na safra agrícola.

Quanto aos testes de fumigação, assim que houver dados de campo e parâmetros bioquímicos capazes de substanciar conclusões seguras, pretende-se retomá-los, se possível expondo as plantas em câmaras colocadas em luz natural e aclimatando-se as plantas previamente dentro das câmaras, a fim de reduzir os problemas referentes ao comportamento estomático.

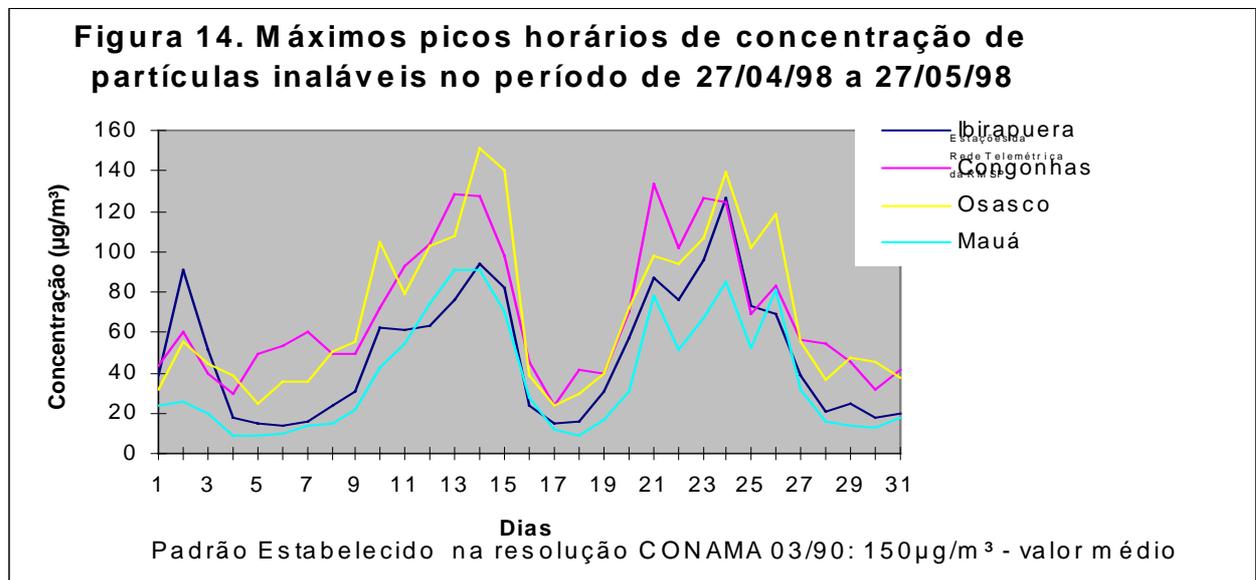
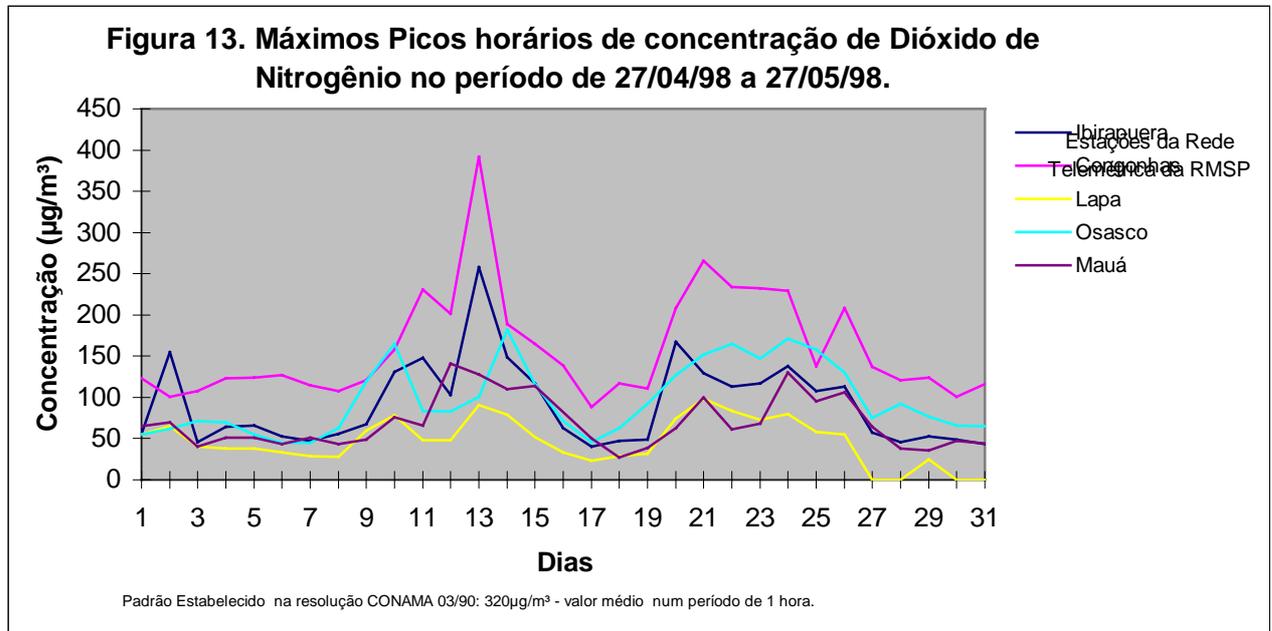
## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASHMORE, M.R. ; BELL,N.B. & REILY,C.L. The distribution of phytotoxic ozone in the British Isles. **Environmental Pollution**. 1980: 195-216. 1980.
- ASHMORE, M.R. e WILSON, R.B. Critical levels of air pollutants for Europe (UNECE Workshop Report, Egham 1992). 1994.
- BLUM, U. and HECK, D.T. Ozone, time-concentration model to predict acute foliar injury. Proc. 2<sup>nd</sup> Int. Clean Air Congr., Washington D.C., pp 249-355. 1971. In: GUDERIAN, R. Air pollution by photochemical oxidants: formation, trnasport, control and effects on plants. Berlin, Springrer-Verlag, 1985.
- BUCKER, J. AND BALLACH,H.J. Alterations in carbohydrate levels in leaves due to ambient air pollution. Physiol. Plant. 86: 512-517.1992.
- CETESB. Poluição atmosférica e seus efeitos sobre as plantas - uma revisão. **Série Relatórios**. 123p. 1985.
- CETESB. Legislação Estadual - Controle de Poluição Ambiental do Estado de São Paulo. **Série Documentos**. 1995.
- CETESB. Relatório Anual de Qualidade do Ar. **Série Relatórios**. 86p. 1996.
- GODZIK. B. Ground level ozone concentration in the Kraków region, Southern Poland. **Environmental Pollution**. 98: 273-280. 1997.
- GUDERIAN, R. Air pollution by photochemical oxidants: formation, transport, control and effects on plants. Berlin, Springrer-Verlag, 1985.
- FIALHO, R.C and BUCKER,J. Changes in levels of foliar carbohydrates and myo-inositol before premature leaf senescence of Populus nigra induced by a mixture of O<sub>3</sub> and SO<sub>2</sub>. Canadian Journal of Botany. Vol 74. n 6. 965-970. 1996.
- HEAGLE, A. S.; PHILBECK, R. B.; ROGERS, H. H. and LETCHWORTH, M. B. Dispensing and Monitoring Ozone in Open -Top Chambers for Plants- effects Studies. **Phytopathology**. 15-20p. 1979.
- HECK, W.W. and DUNNING, J. A. The Effects of Ozone on Tobacco and Pinto Bean as Conditioned by Several Ecological Factors. **Journal of the Air Pollution Control Association**. Ohio. 112-114. 1970.
- HECK, W.W. and TINGEY, D.T. Ozone, time-concentration model to predict acute foliar injury. Proc. 2<sup>nd</sup> Int. Clean Air Congr., Washington D.C., pp 249-355. 1971. In: GUDERIAN, R. Air pollution by photochemical oxidants: formation, trnasport, control and effects on plants. Berlin, Springrer-Verlag, 1985.

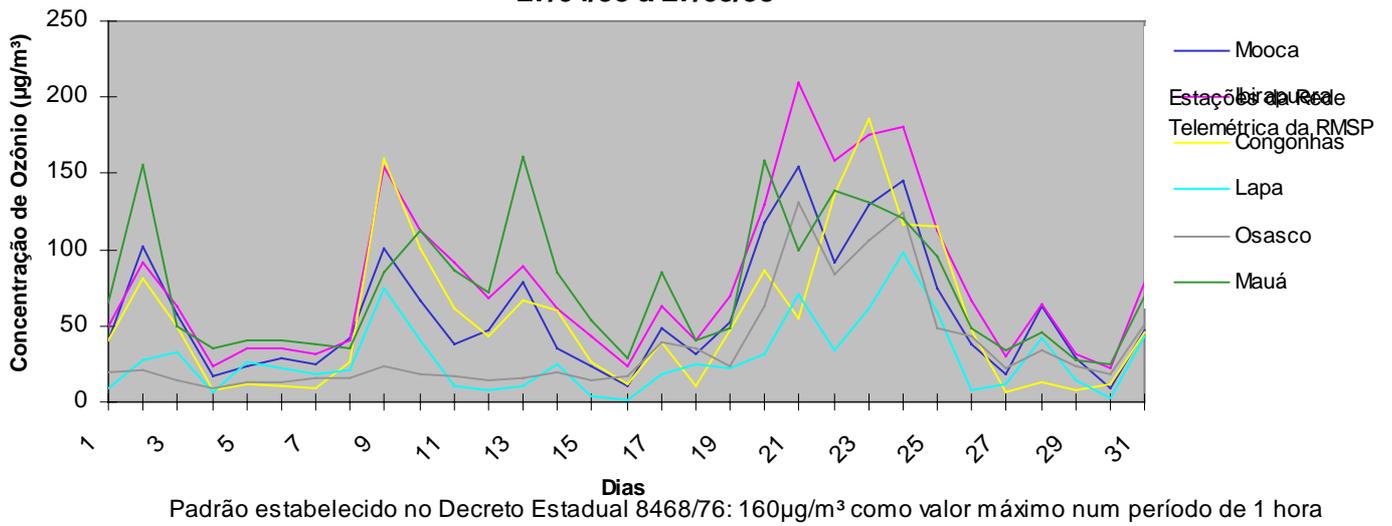
- HEGGESTAD, H.E. Origin of Bel-W3, Bel-C and Bel-B Tobacco Varieties and Their Use as Indicator of Ozone. **Environmental Pollution**. Maryland. 74. 264-291. 1991.
- HILL, A.C.; HEGGESTAD, H. E.; LINZON, S.N. Recognition of Air Pollution Injury to Vegetation: A Pictorial Atlas. **Air Pollution Control Association**. Utah. 90p. 1970.
- KLUMPP, A., KLUMPP, G., DOMINGOS, M. Monitoring atmospheric ozone concentrations at the Serra do Mar, near Cubatão, by the use of bioindicator plants. In: **Resumos do X Congresso da SBSP**. Santos- SP. 1994a.
- KLUMPP, A., KLUMPP, G., DOMINGOS, M. Plants as Bioindicators of Air Pollution at the Serra do Mar Near the Industrial Complex of Cubatão, Brazil. **Environmental Pollution**. 85. 109-116. 1994b.
- KLUMPP, A.; DOMINGOS, M.; MORAES, R.M. and KLUMPP, G. Effects of complex air pollution on tree species of the Atlantic Rain Forest near Cubatão, Brazil. *Chemosphere* 36 (4-5):989-994. 1998.
- KOPPEL, A. and SILD, E. Bioindication of Ozone in Estonia by using the Tobacco variety Bel W3. **Water, Air and Soil Pollution**. 85. 1515-1519. 1995.
- KOCHHAR, M.; BLUM, U. and REINERT, R.A. Effects of O<sub>3</sub> and (or) fescue on ladino clover: interactions. *Can. Journal Bot.* 58:241-249. 1980. In: GUDERIAN, R. Air pollution by photochemical oxidants: formation, transport, control and effects on plants. Berlin, Springer-Verlag. 1985.
- KRUPA, S.V.; GRUNHAGE, L.; JAGER, H.J.; NASAL, M.; MANNING, W.J.; LEGGE, A.H. and HANEWALD, K. Ambient ozone (O<sub>3</sub>) and adverse crop response: a unified view of cause and effect. *Environ. Pollut.* 87:119-126. 1994.
- MANNING, W.J. and FEDER, W.A. Biomonitoring Air Pollutants with Plants. **Pollution Monitoring Series**. London. 141p. 1980.
- NETER, J.; WASSERMAN, W.; KUTNER, M. H. – **Applied Linear Statistical Models** IRWIN. 1985
- PELL, E.J; SCHLAGNHAUFER, C.D; ARTECA, R.N. Stress oxidativo induzido por ozônio: mecanismos de ação e reação. **Physiologia Plantarum**. 100: 264-273. 1997.
- RICH, S. and TURNER, N.C. Importance of moisture on stomatal behavior of plants subjected to ozone. *J. Air Pollut. Control Assoc.* 22:718-721. 1972. In: GUDERIAN, R. Air pollution by photochemical oxidants: formation, transport, control and effects on plants. Berlin, Springer-Verlag. 1985.
- TING, I.P. and HEATH, R.L. Responses of plants to air pollutant oxidants. *Adv. Agron.* 27:89-121. 1975.

## 6. ANEXOS

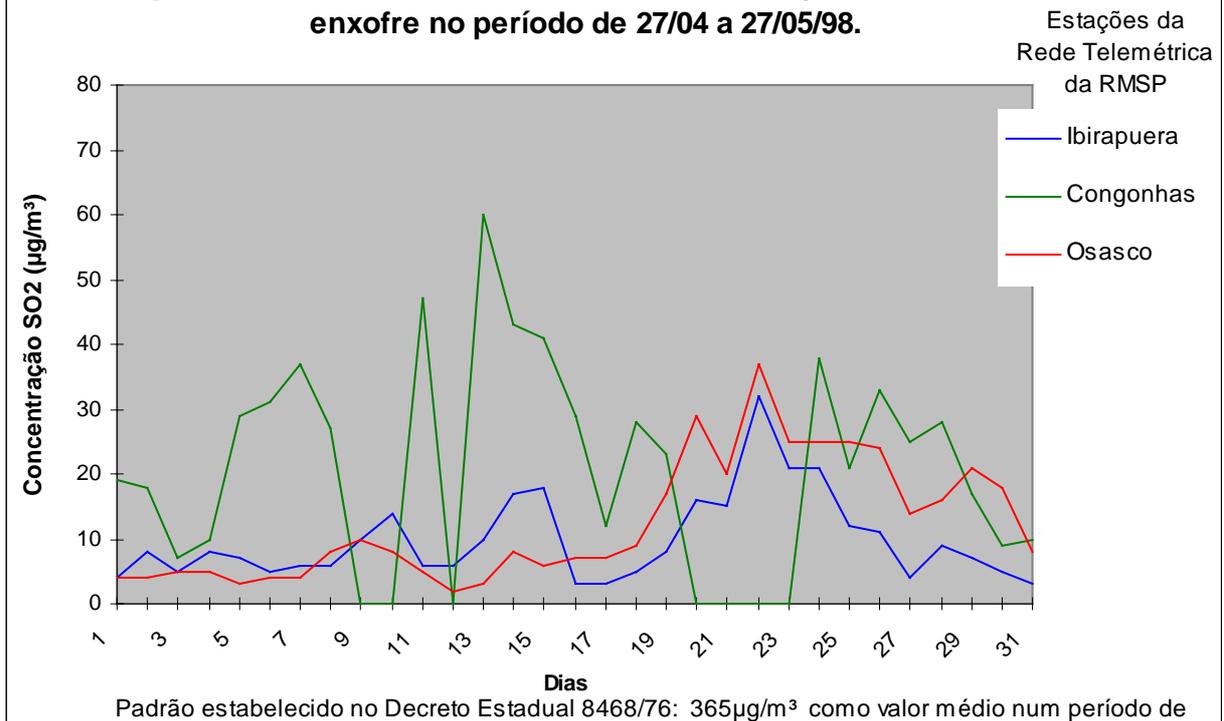
ANEXO 1 – Dados de qualidade do ar no período de 27/04/98 a 27/05/98 (Figuras de 13 a 16)



**Figura 15. Máximos Picos Horários de Concentração de Ozônio no período de 27/04/98 a 27/05/98**



**Figura 16. Máximos picos horários de concentração de dióxido de enxofre no período de 27/04 a 27/05/98.**



**ANEXO 2 – Fotos de plantas expostas em campo no período de maio-junho/98 (Figuras de 17 a 29)**



Figura 17 – Detalhe de folha injuriada proveniente de exposição de 28 dias no Ibirapuera



Figura 18 – Planta exposta durante 28 dias em Mauá (retirada em 08/06/98)



Figura 19 – Detalhe de folha injuriada proveniente de exposição de 28 dias na Lapa



Figura 20 – Detalhe de folha injuriada proveniente de exposição de 28 dias na Mooca



Figura 21 – Detalhe de folha injuriada proveniente de exposição de 28 dias em Congonhas



Figura 22 – Planta exposta durante 28 dias em Osasco (retirada em 08/06/98)



Figura 23 – Planta exposta durante 28 dias em Santos – Centro (retirada em 08/06/98)



Figura 24 – Planta exposta durante 28 dias em Santos – Orla (retirada em 09/06/98)



Figura 25 – Planta exposta durante 28 dias em Cubatão – Casqueiro (retirada em 09/06/98)



Figura 26 – Planta exposta durante 28 dias em Paranapiacaba



Figura 27 – Planta exposta durante 28 dias no Instituto de Botânica

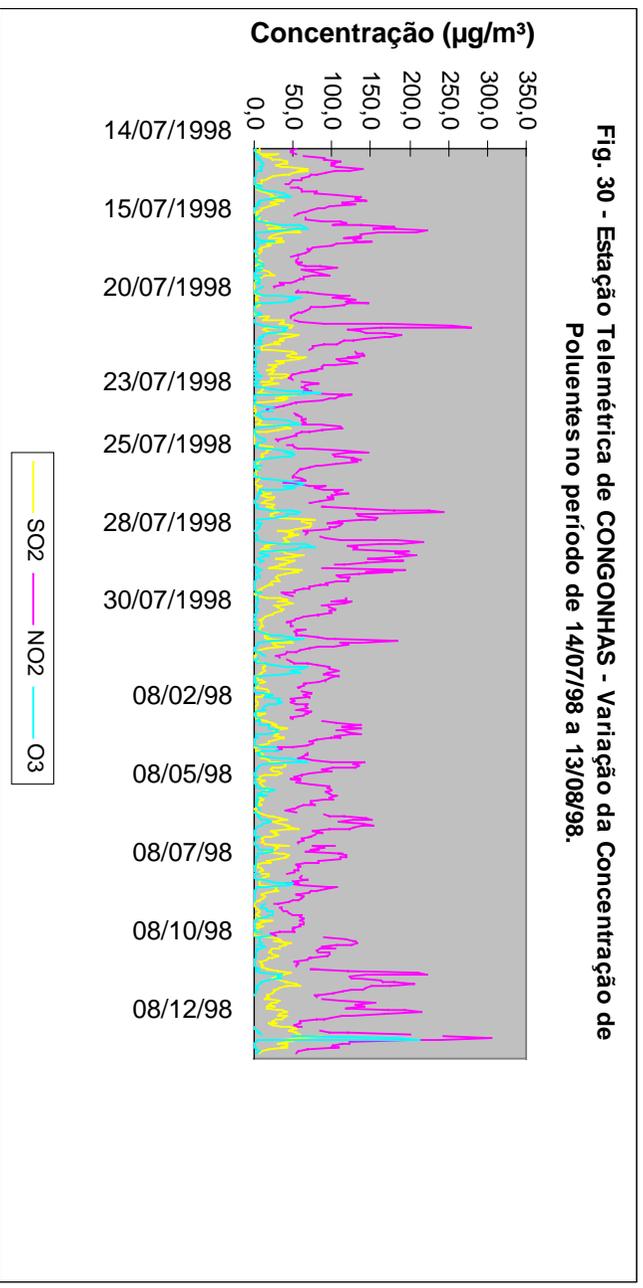


Figura 28 – Planta exposta durante 28 dias em Ribeirão Pires

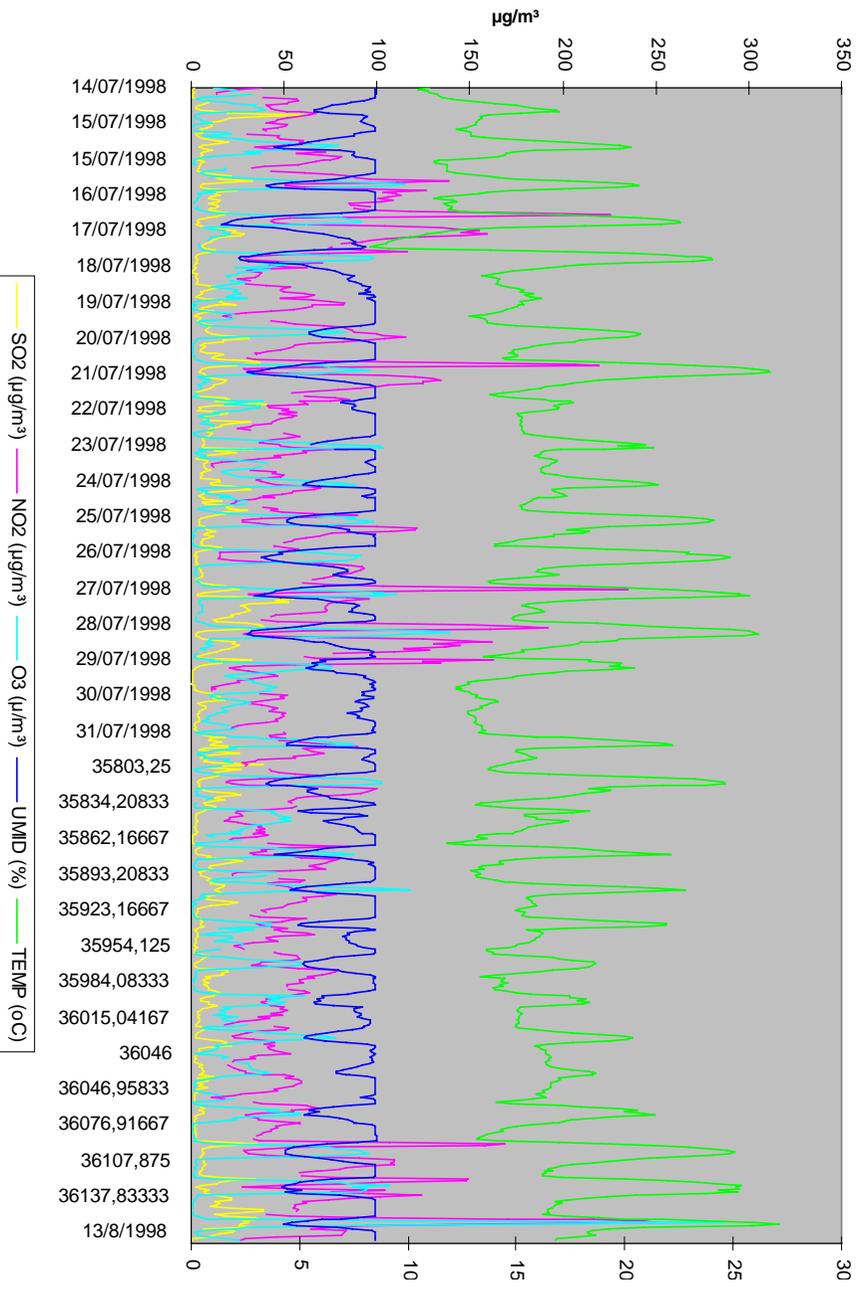


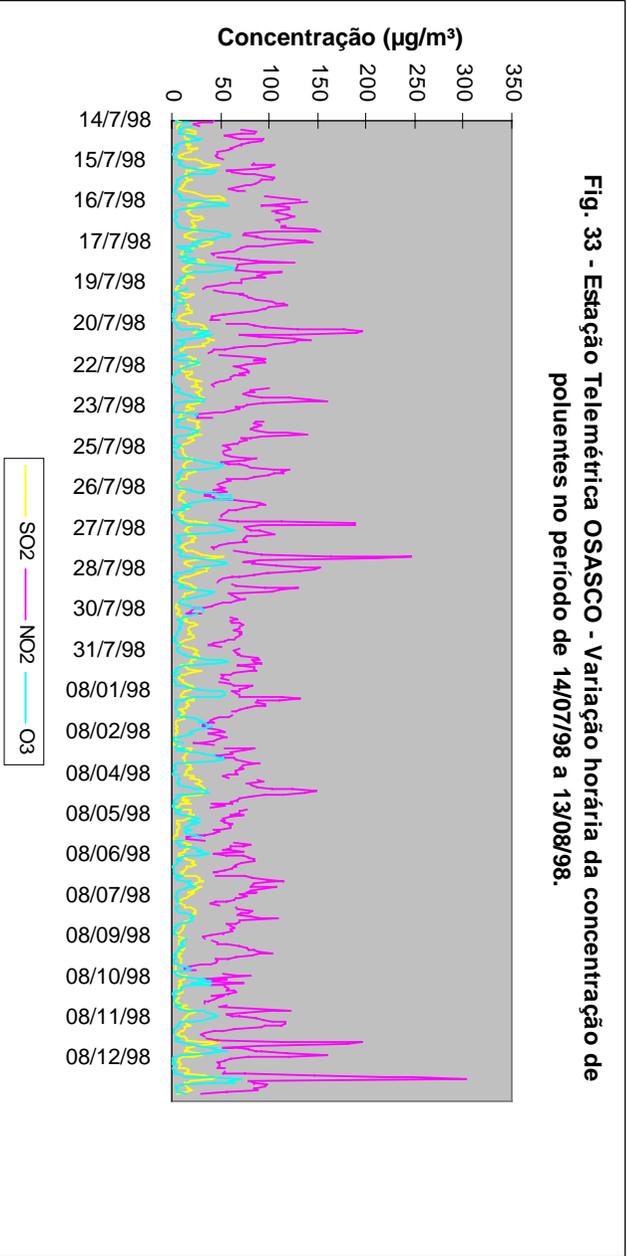
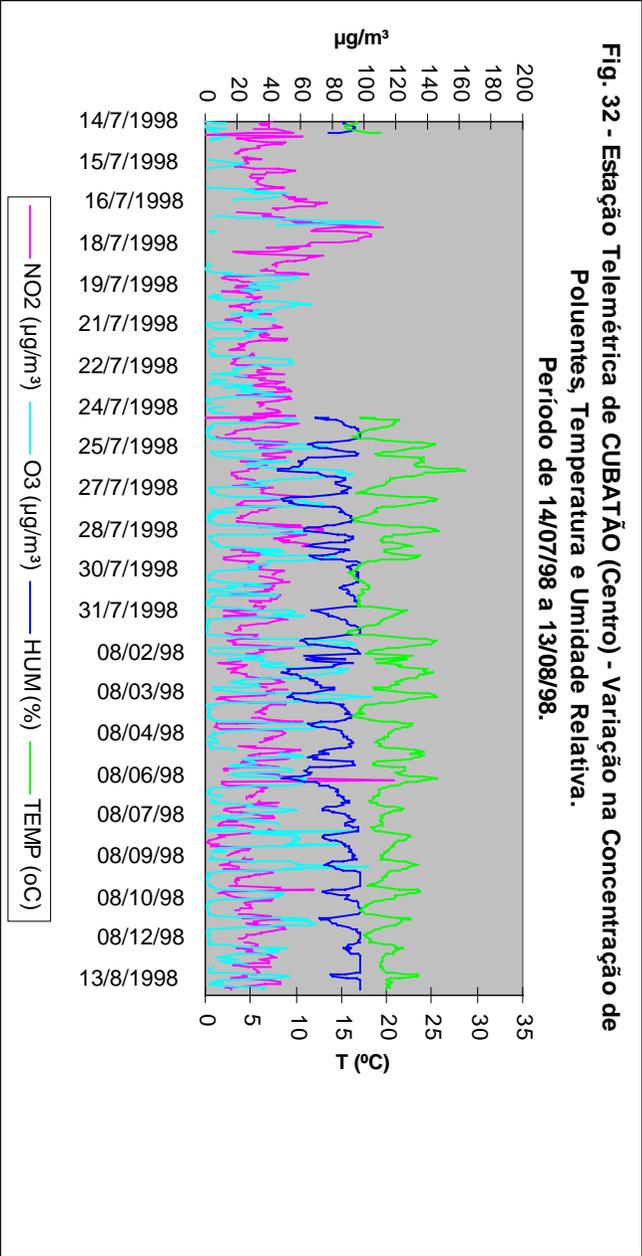
Figura 29 – Detalhe de folha injuriada proveniente de exposição de 28 dias em Alphaville

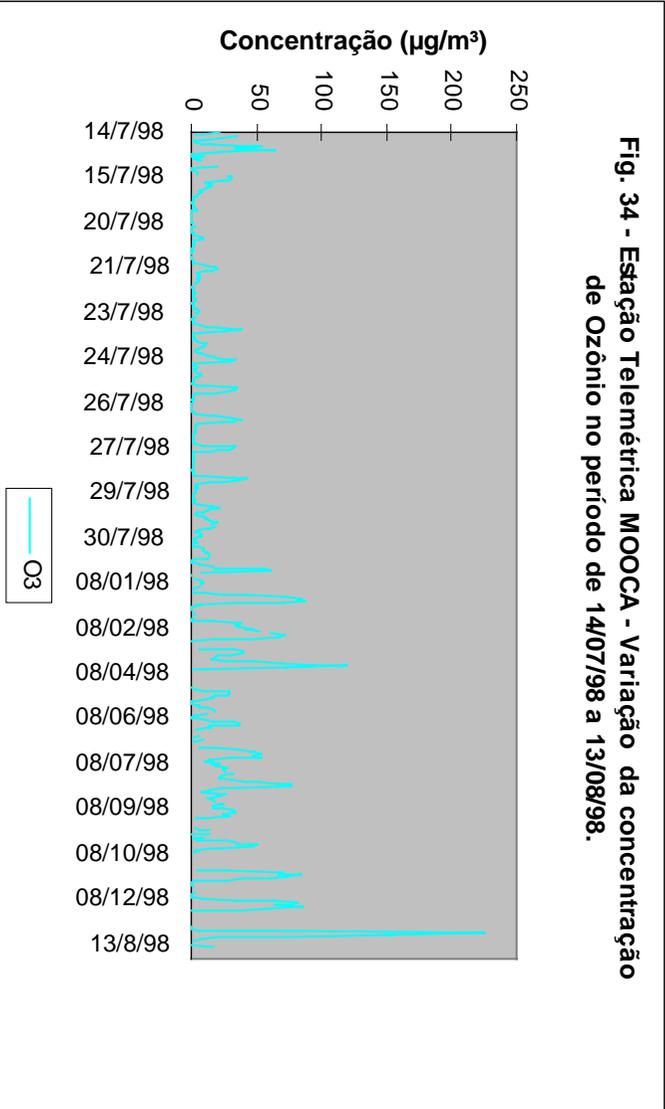
ANEXO 3 – Dados de qualidade do ar na RMSP no período de 14/07/98 a 13/08/98



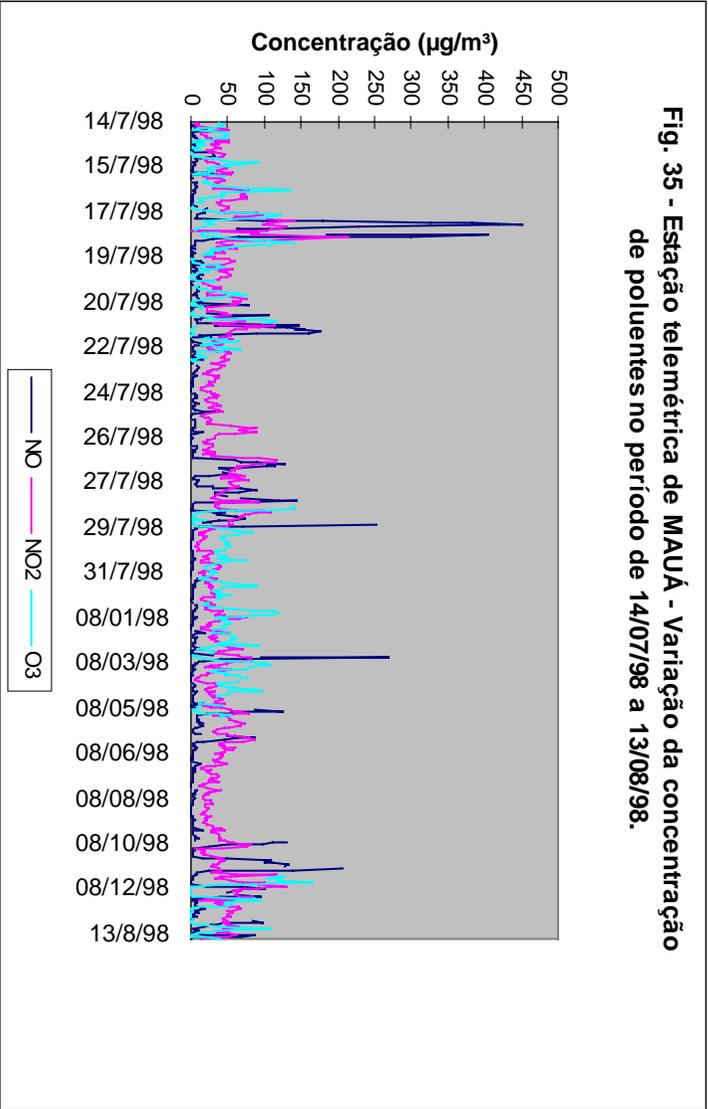
**Fig. 31 - Estação Telemétrica IBIRAPUERA - Variação na Concentração de Poluentes, Temperatura e Umidade Relativa - Período de 14/07/98 a 13/08/98.**







**Fig. 34 - Estação Telemétrica MOOCA - Variação da concentração de Ozônio no período de 14/07/98 a 13/08/98.**



**Fig. 35 - Estação telemétrica de MAUÁ - Variação da concentração de poluentes no período de 14/07/98 a 13/08/98.**

Fig. 36 - Estação Telemétrica LAPA - Variação horária da concentração de poluentes no período de 14/07/98 a 13/08/98.

