

Avaliação da sensibilidade da goiabeira 'Pedro Sato' ao ozônio

Regina Maria de Moraes⁽¹⁾, Cláudia Maria Furlan⁽²⁾, Sérgio Tadeu Meirelles⁽²⁾, Deborah Yara Alves Cursino dos Santos⁽²⁾,
Sílvia Ribeiro de Souza⁽¹⁾, Sandra Regina de Araújo da Silva Viola⁽¹⁾, Fernanda Mendes de Rezende⁽²⁾,
Joyce Marques Barbosa⁽²⁾ e Robson Lazareti Domingos⁽¹⁾

⁽¹⁾Instituto de Botânica, Caixa Postal 3005, Avenida Miguel Stéfano, nº 3.687, Água Funda, CEP 04301-012 São Paulo, SP. E-mail: regmora@uol.com.br, souzasrd@hotmail.com, sandra.viola@yahoo.com.br, robsonld@yahoo.com.br ⁽²⁾Universidade de São Paulo, Instituto de Biociências, Rua do Matão, nº 277, Cidade Universitária, Caixa Postal 11461, CEP 05422-970 São Paulo, SP. E-mail: furlancm@ib.usp.br, stmeirel@ib.usp.br, dyacsan@ib.usp.br, rezendefm@hotmail.com.br, joycebarbosa.bio@gmail.com

Resumo – O objetivo deste trabalho foi avaliar a sensibilidade da goiabeira 'Pedro Sato' ao ozônio (O_3), em comparação à cultivar Paluma, descrita como sensível. Oito plantas de cada cultivar foram submetidas separadamente a ar filtrado e a ar filtrado + O_3 , cinco horas por dia, durante quatro dias. Foram avaliadas fotossíntese (A_{sat}), injúrias foliares visíveis e concentração de antocianinas e taninos. Plantas das duas cultivares também foram expostas, durante três meses, a condições ambientais em local contaminado por O_3 , tendo-se avaliado fotossíntese, injúrias foliares e crescimento. Plantas fumigadas com O_3 apresentaram redução de A_{sat} e da atividade fotoquímica, além de manifestação de injúrias foliares. 'Paluma' apresentou maior redução de A_{sat} , injúrias foliares mais severas e redução de taninos. Quando exposta ao ambiente contaminado, 'Paluma' apresentou trocas gasosas mais altas, mas apresentou redução de A_{sat} 30 dias antes que 'Pedro Sato'. O crescimento não foi afetado em 'Pedro Sato', cujas injúrias foliares tiveram menor incidência, severidade e precocidade do que em 'Paluma'. A menor taxa de crescimento de 'Paluma' indica maior sensibilidade ao O_3 . Apesar de responder com menor intensidade ao estresse induzido pelo O_3 , a cultivar Pedro Sato não pode ser considerada tolerante, pois apresenta danos fotoquímicos, injúrias foliares e alterações nos conteúdos de metabólitos secundários quando exposta a esse poluente.

Termos para indexação: *Psidium guajava*, assimilação de carbono, flavonoides, injúrias foliares.

Ozone sensitivity assessment of 'Pedro Sato' guava

Abstract – The objective of this work was to evaluate the sensitivity of 'Pedro Sato' guava to ozone (O_3), in comparison to the cultivar Paluma, considered sensitive. Eight plants of each cultivar were subjected separately to filtered air and filtered air + O_3 five hours per day, for four days. Photosynthesis (A_{sat}), visible foliar injuries, and concentration of anthocyanin and tannin were evaluated. Plants of both cultivars were also exposed, during three months, to environmental conditions at a site polluted by O_3 , and growth, photosynthesis, and injuries were evaluated. Plants fumigated with O_3 showed reduction of A_{sat} and photochemical activity, besides foliar injury expression. 'Paluma' showed greater reduction of A_{sat} , severe foliar injury and tannin reduction. When exposed to the polluted environmental conditions, 'Paluma' had higher gas exchange, but showed A_{sat} decrease 30 days before 'Pedro Sato'. Growth was not affected in 'Pedro Sato', whose foliar injuries had lower incidence, severity, and precocity than in 'Paluma'. The lower growth rate of 'Paluma' indicates greater O_3 sensitivity. Although the cultivar Pedro Sato responded with less intensity to ozone-induced stress, it cannot be considered tolerant, since it is susceptible to photochemical damage, foliar injuries, and alterations in secondary metabolite content when exposed to this contaminant.

Index terms: *Psidium guajava*, carbon assimilation, flavonoids, foliar injury.

Introdução

As concentrações de ozônio troposférico (O_3) têm aumentado globalmente à taxa de 1,5% ao ano (Karnosky et al., 2003), tanto em regiões urbanas quanto rurais. O ozônio é um forte oxidante que penetra na folha através dos estômatos durante as trocas gasosas e prontamente reage com moléculas de água, o que dá

origem a diversas espécies reativas de oxigênio que podem afetar processos fisiológicos e metabólicos das plantas (Cho et al., 2011). Essas alterações promovem a redução da disponibilidade de carbono e energia para produção de antioxidantes, a antecipação da senescência foliar, a manifestação de cloroses e necroses foliares, e a diminuição do crescimento e da produtividade da planta (Ashmore, 2005).

A fotossíntese é um processo particularmente suscetível ao ozônio. Sua redução pode ocorrer em virtude da diminuição da condutância estomática, do transporte de elétrons e da carboxilação. O principal dano induzido pelo O_3 à fotossíntese ocorre pela inativação e pela redução da síntese da ribulose 1,5-bifosfato carboxilase-oxigenase (Rubisco) e da capacidade de regeneração da ribulose 1,5-bifosfato (RuDP) (Calatayud et al., 2010). Danos aos fotossistemas, que resultam, principalmente, na redução da eficiência fotoquímica do fotossistema II, também têm sido verificados em plantas expostas a esse poluente (Gerosa et al., 2009; Cho et al., 2011).

Espécies bioindicadoras sensíveis apresentam injúrias foliares visíveis quando expostas a um determinado poluente (De Temmerman et al., 2004), e, portanto, são capazes de detectar a presença do poluente no ar e de evidenciar o estresse ao qual a planta foi exposta.

O conhecimento sobre o estresse induzido pelo O_3 em espécies vegetais foi obtido, em sua maior parte, pelo estudo de plantas nativas das regiões temperadas. No entanto, são escassos os trabalhos sobre a sensibilidade ao O_3 das espécies nativas de regiões tropicais, que apresentam concentrações iguais ou superiores às verificadas em latitudes mais altas. Os primeiros estudos realizados no Brasil foram os de Moraes et al. (2006) com pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.), de Furlan et al. (2007) com goiabeira (*Psidium guajava* L.) 'Paluma' e de Furlan et al. (2008) com quaresmeira (*Tibouchina pulchra* Cogn.). A cultivar 'Paluma' apresenta grande sensibilidade ao O_3 , com injúrias foliares muito características quando exposta a esse poluente (Furlan et al., 2007), o que torna possível sua utilização como bioindicadora.

A sensibilidade ao O_3 pode estar relacionada à maior difusão do poluente para o interior da folha ou à baixa eficiência de compostos que neutralizam o estresse oxidativo (Heath, 2008). Na goiabeira, essa função antioxidante é exercida principalmente por substâncias fenólicas, como flavonóis, antocianinas e taninos (Dias et al., 2007; Rezende & Furlan, 2009). Entretanto, muitas vezes, a planta apresenta respostas anteriores à manifestação de injúrias foliares. Por isso, é importante avaliar a fotossíntese, um dos primeiros processos a ser alterado pelo O_3 (Heath, 2008).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a sensibilidade da goiabeira 'Pedro Sato' ao O_3 , em comparação à cultivar Paluma, descrita como sensível.

Material e Métodos

O experimento foi realizado no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI), em São Paulo, SP, a 23°40'S e 46°36'W, a 780 m de altitude. O clima da região, segundo Köppen, é do tipo Cfa.

Foram realizados dois experimentos. No primeiro, utilizou-se um sistema de câmaras fechadas para a fumigação das plantas com O_3 e, no segundo, as plantas foram expostas a condições ambientais, já que o PEFI é severamente contaminado por O_3 (Pina, 2010). As câmaras fechadas de fumigação consistiram de filmes de teflon fixados em armação de aço inoxidável. Na parte inferior de cada câmara, foi colocado um suporte para vasos e, logo abaixo, um reservatório com água. Nessas câmaras, oito plantas de cada cultivar foram expostas a dois tratamentos: ar filtrado (AF), isento de poluentes; e ar filtrado, enriquecido com 56±24 ppb de ozônio (AF + O_3) por cinco horas diárias, durante quatro dias.

Plantas jovens de 'Pedro Sato' e 'Paluma' com a mesma procedência e idade (seis meses), cerca de 30 cm de altura e produzidas por estaquia, foram transplantadas em vasos contendo substrato Plantmax (Eucatex, Paulínia, SP) e vermiculita fina na proporção 3:1. Em seguida, as plantas receberam 100 mL de solução nutritiva de Hoagland. Cada cultivar foi fumigada duas vezes, nos períodos: 15–18/1 e 29/1–1/2/2010 ('Pedro Sato') e 22–25/1 e 5–8/2/2010 ('Paluma'). A concentração de ozônio foi medida por meio de analisador, modelo APOA-360CE (Horiba, Kyoto, Japão). Além da concentração média de O_3 de cada período, foi calculada a concentração acumulada de O_3 acima de 40 ppb (AOT40) (Fuhrer et al., 1997), índice baseado na soma das concentrações horárias de O_3 superiores a 40 ppb. Durante as fumigações, a temperatura das câmaras foi monitorada com termopares e a umidade relativa do ar, com termo-higrômetros HTR-170 (Instruterm, São Paulo, SP), instalados dentro das câmaras.

A assimilação líquida de carbono sob radiação fotossinteticamente ativa de saturação (A_{sat}) foi medida com analisador de gases por infravermelho

LCPro+, (ADC Bioscientific Ltd., Hertfordshire, Reino Unido), na primeira folha totalmente expandida (quarto ou quinto nó) de cada uma das plantas que permanecerem nas câmaras. Essas medidas foram realizadas após o término dos períodos de exposição, entre 9 e 11h, tendo-se utilizado concentração de CO₂, temperatura e umidade relativa ambiente. A radiação fotossinteticamente ativa de saturação foi determinada anteriormente, por meio da realização de curvas de resposta à luz.

A fluorescência da clorofila a foi obtida com fluorômetro modulado FMS 2, (Hansatech Instruments, Norfolk, Reino Unido). A fluorescência inicial (Fo) foi medida em folhas previamente adaptadas ao escuro por 20 min, e a fluorescência máxima (Fm), após um pulso de saturação luminosa de 0,7 s. A fluorescência variável (Fv = Fm - Fo) e a eficiência fotoquímica potencial do fotossistema II (Fv/Fm) foram calculadas para folhas adaptadas ao escuro. Após a determinação desses parâmetros, as folhas foram submetidas à aplicação de pulso de saturação luminosa por 0,7 s para determinar os parâmetros do estado adaptado à luz: fluorescência máxima na luz (F'M) e fluorescência inicial na luz (F'o), o que permitiu a obtenção de fluorescência variável no estado adaptado à luz ($\Delta F = F'M - F'o$), bem como da eficiência quântica efetiva do fotossistema II (Φ) e da taxa de transporte de elétrons, $ETR = \Delta F/F'M \times DFFF \times 0,84 \times 0,5$, em que, DFFF é a densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos.

As injúrias foliares visíveis induzidas pelo O₃ foram identificadas segundo Novak et al. (2003), com surgimento: apenas na superfície adaxial do limbo; somente nas regiões entre nervuras; ou, inicialmente, nas folhas mais velhas, progredindo para as mais novas no decorrer da exposição. A percentagem da superfície foliar coberta por injúrias foi estimada nas seguintes classes: 1, 1–5%; 2, 6–25%; 3, 26–50%; 4, 51–75%; e 5, acima de 76%. Essas classes de injúrias foram utilizadas para calcular o índice de injúria foliar (IIF), de acordo com Furlan et al. (2007):

$$IIF (\%) = \{(N_1 \times 1) + (N_2 \times 2) + (N_3 \times 3) + (N_4 \times 4) + (N_5 \times 5)\} / \{(N_0 + N_1 + N_2 + N_3 + N_4 + N_5) \times 5\} \times 100$$

em que: N₁, N₂, N₃, N₄ e N₅ são os números de folhas que se enquadravam nas classes 1, 2, 3, 4 e 5, respectivamente, e N₀ é o número de folhas sem

sinais de injúria. Também avaliou-se a incidência de injúrias, dada pelo número de indivíduos com sintomas foliares em percentagem do número total de indivíduos.

Para a análise de antocianinas, foram utilizados 0,25 g de folhas retiradas do quarto par de folhas, partindo do ápice, de cada uma das oito plantas de cada tratamento (American Herbal Pharmacopoeia, 2011). As folhas foram trituradas em nitrogênio líquido e, em seguida, foi adicionada uma alíquota de 10 mL de metanol acidificado com ácido clorídrico 0,2%. A mistura foi filtrada e centrifugada a 9.000 g por 10 min. O espectro de absorvância foi obtido na faixa de comprimento de onda de λ 528 nm, e as leituras foram realizadas em espectrofotômetro UV 1650PC, (Shimadzu, São Paulo, SP). O branco foi constituído por solução de metanol acidificado com ácido clorídrico 0,2%, e a quantidade de antocianina foi calculada pela fórmula:

$$\% \text{ de antocianinas} = [(A \times V)/(772 \times m)] \times 100,$$

em que: A é a absorvância da amostra em 528 nm; V é o volume final da leitura; m é a massa da amostra (g); e 772 é a absorvância específica da cianidina-3-glicosídeo.

Os taninos condensados foram determinados em 0,25 g de folhas retiradas do quarto par de folhas (a partir do ápice) de cada uma das oito plantas de cada tratamento. O material foi triturado em nitrogênio líquido e, após a trituração, foi acrescentado 20 mL de metanol a 50%. Em seguida, a mistura foi aquecida a 40°C por 1 hora, tendo sido agitada regularmente, e centrifugada a 9.000 g por 10 min. O sobrenadante foi recolhido em um balão volumétrico onde o volume foi completado para 25 mL com metanol 50%. Em microtubos, adicionou-se uma alíquota de 100 μ L de amostra e 1,5 mL de butanol homogeneizando vigorosamente. A solução foi aquecida a 95°C por 1 hora. Após o resfriamento da solução, o espectro de absorvância foi obtido na faixa de comprimento de onda de λ 550 nm, e as leituras foram realizadas em espectrofotômetro UV 1650PC, (Shimadzu, São Paulo, SP).

As comparações entre os resultados obtidos em plantas de 'Pedro Sato' e 'Paluma', mantidas em AF e AF + O₃, foram realizadas por meio do teste t, a 5% de probabilidade.

A exposição em condições ambientais ocorreu entre 18/2 e 18/5/2010, com $n = 24$, no PEFI. As condições de cultivo foram as mesmas utilizadas no experimento em câmaras de fumigação. Um lote com seis plantas de cada cultivar foi mantido durante todo o experimento em casa de vegetação com ar filtrado, tendo sido utilizado como testemunha para sintomas foliares induzidos pelo O_3 . Foram realizadas medidas de trocas gasosas – assimilação de carbono sob radiação fotossinteticamente ativa de saturação (A_{sat}) e condutância estomática (gs) – e de sintomas foliares visíveis aos 30, 60 e 90 dias de exposição. Nas mesmas datas, mediu-se a altura e o diâmetro da base do caule, e contou-se o número de folhas para cálculo da taxa de crescimento relativo (TCR). No final da exposição, foram realizadas as medidas de massa de matéria seca de folhas, caules e raízes, e calculada a razão raiz/parte aérea.

Dados de temperatura e umidade relativa do ar foram fornecidos pela Estação do Instituto Astronômico e Geofísico, localizada no interior do PEFI. As concentrações de ozônio (Cetesb, 2011) foram obtidas na estação de monitoramento do Parque Ibirapuera, que apresenta características semelhantes ao PEFI. Pina (2010) realizou análise de regressão entre as concentrações horárias de O_3 obtidas nesses dois lugares, de setembro de 2007 a dezembro de 2008, e obteve R^2 médio de 0,785, com valores máximos de 0,90, no outono e no inverno de 2008, todos significativos.

Os resultados obtidos para cada cultivar ao longo do tempo foram comparados por meio de análise de variância, e a discriminação entre as médias foi feita pelo teste de comparações múltiplas. As comparações entre resultados obtidos das duas cultivares em uma mesma data foram realizadas por meio do teste t, a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

As médias de temperatura e umidade relativa do ar variaram pouco nas exposições em câmaras (Tabela 1). As concentrações de O_3 obtidas durante as exposições são frequentemente registradas na cidade de São Paulo (Relatório de qualidade do ar do Estado de São Paulo, 2010) e, portanto, podem ser consideradas concentrações realísticas, assim como a AOT40. Embora esse índice tenha sido proposto para proteção da vegetação de regiões temperadas contra os efeitos induzidos pelo O_3 ,

foi utilizado, neste trabalho, para comparação, pois não há similares para regiões tropicais. Na exposição em campo, a temperatura apresentou o decréscimo sazonal esperado, a precipitação acumulada foi de 497 mm e as concentrações de O_3 (médias horárias e AOT40) foram mais baixas do que as médias históricas para o período. A AOT40 obtida no período correspondeu a 3.249 ppb.

A assimilação líquida de carbono sob radiação fotossinteticamente ativa de saturação (A_{sat}) foi significativamente reduzida nas duas cultivares fumigadas com O_3 (Tabela 2). Porém, a redução em 'Pedro Sato' (20%) foi menos acentuada do que em 'Paluma' (32%). A redução da fotossíntese pela ação do O_3 é verificada com frequência (Moraes et al., 2006; Ryan et al., 2009; Pina & Moraes, 2010). A Rubisco geralmente é o primeiro alvo do O_3 , que causa sua degradação, além de reduzir sua síntese, o que leva à redução da assimilação de carbono (Heath, 2008; Cho et al., 2011).

As plantas de 'Pedro Sato' expostas em campo apresentaram menor atividade fisiológica, com médias de A_{sat} iguais ou inferiores às de 'Paluma', como observado para gs (Figura 1). Aos 30 dias de exposição, não houve diferença significativa entre as cultivares quanto à A_{sat} , que foi mais alta em 'Paluma' aos 60 dias e em 'Pedro Sato' aos 90. Em 'Paluma', a A_{sat} foi reduzida aos 90 dias de exposição, e, em 'Pedro Sato', 30 dias antes. Nas plantas de 'Paluma', a A_{sat} diminuiu gradativamente ao longo de todo o período, enquanto, em 'Pedro Sato', houve uma queda marcada aos 60

Tabela 1. Médias de temperatura, umidade relativa do ar (UR), concentração horária (O_3) e acumulada de ozônio acima de 40 ppb (AOT40) durante a exposição de plantas de goiabeira 'Pedro Sato' e 'Paluma', em câmaras fechadas (janeiro a fevereiro de 2010) e em condições ambientais (fevereiro a maio de 2010), em São Paulo, SP.

Cultivar	Data	Temperatura (°C)	UR (%)	O_3 ----- (ppb) -----	AOT40
Exposição em câmaras					
Pedro Sato	15/1	28	76	44	106
Paluma	22/1	27	82	48	177
Pedro Sato	29/1	28	80	68	566
Paluma	5/2	29	80	69	505
Exposição em condições ambientais					
	Fevereiro	29	52	29	52
Pedro Sato/ Paluma	Março	26	60	27	1.152
	Abril	23	61	29	1.080
	Maio	22	60	26	965

dias, seguida por um novo aumento, não significativo, ao final da exposição.

A condutância estomática em plantas de 'Pedro Sato' foi inferior à verificada em 'Paluma' (Figura 1). Médias mais altas de gs favorecem a difusão de poluentes para o interior da planta. Assim, embora as duas cultivares tenham sido expostas ao mesmo ambiente, as plantas de 'Paluma' receberam maior dose de O₃ do que as de 'Pedro Sato'. Além disso, a razão A_{sat}/gs foi maior em 'Pedro Sato' do que em 'Paluma'. Segundo Wei et al. (2004) e Orendovici-Best et al. (2008), a razão A_{sat}/gs está fortemente relacionada à quantidade de sintomas foliares induzidos por O₃, uma vez que altas taxas de fotossíntese podem compensar a ação do ozônio ao fornecer maior quantidade de poder redutor (NADPH e ATP) para os processos de defesa e reparo. Portanto, a cultivar Pedro Sato apresenta um metabolismo que

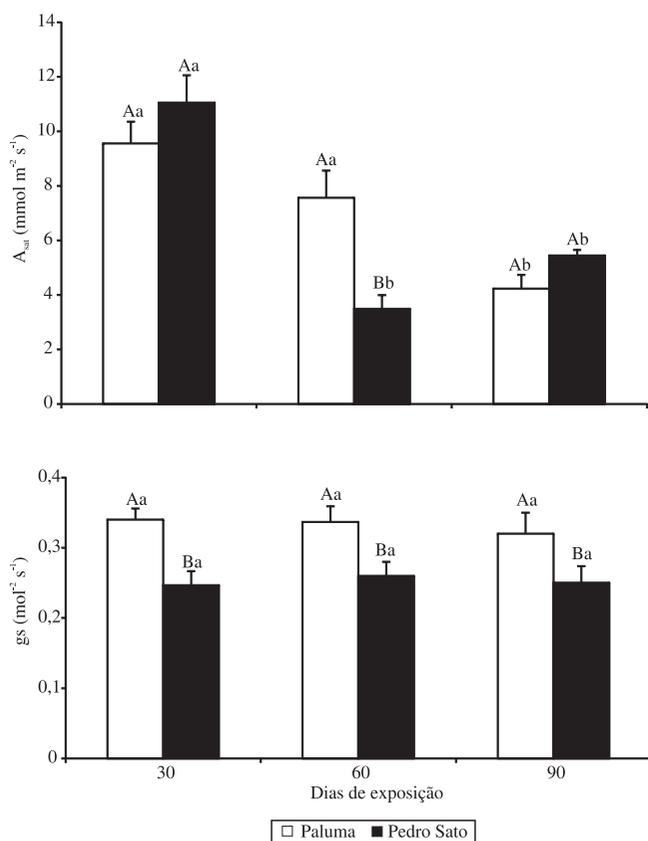


Figura 1. Assimilação líquida de carbono (A_{sat}) e condutância estomática (gs) de plantas de goiabeira de 'Pedro Sato' e 'Paluma' após exposição ao ambiente no PEFI, em São Paulo, SP, de 15/2 a 15/5/2010. Médias seguidas de letras iguais, minúsculas entre períodos de exposição e maiúsculas entre cultivares, não diferem, pelo teste t, a 5% de probabilidade.

lhe permite combater os efeitos induzidos pelo O₃ com maior eficiência que 'Paluma'.

Além de reduzir a A_{sat}, o O₃ também induziu danos na etapa fotoquímica da fotossíntese. Em ambas as cultivares, houve redução das eficiências quânticas potencial e efetiva do fotossistema II (FSII) e da taxa de transporte de elétrons nas plantas fumigadas com ozônio (Tabela 2). A razão F_v/F_m reflete a máxima eficiência com que a luz absorvida pelo complexo antena do FSII pode ser convertida em energia química (eficiência quântica potencial). Diversos fatores de estresse, entre eles o O₃, afetam a eficiência do FSII, o que causa o decréscimo de F_v/F_m (Kitao et al., 2009; Then et al., 2009; Cho et al., 2011). A eficiência quântica efetiva do fotossistema II (ΦFSII) é a eficiência aparente do transporte linear de elétrons pelo FSII, em uma dada condição luminosa. Outro parâmetro afetado foi a taxa relativa de transporte de elétrons (ETR). A redução da ETR está relacionada tanto à menor eficiência de captação de energia, pelos centros de reação do FSII, quanto a danos na cadeia transportadora. É possível que o O₃, ao afetar a Rubisco, cause, indiretamente, a redução do transporte de elétrons, cujos transportadores permanecem reduzidos, bem como de uma parcela dos centros de reação do FSII (Heath, 2008). 'Pedro Sato' e 'Paluma' apresentaram o mesmo padrão de resposta fotoquímica, e as eficiências quânticas potencial e efetiva não diferiram entre as duas cultivares.

As injúrias foliares visíveis induzidas pelo O₃ em 'Pedro Sato' seguiram os mesmos critérios descritos

Tabela 2. Assimilação líquida de carbono sob radiação fotossinteticamente ativa saturante (A_{sat}, μmol m⁻² s⁻¹), eficiência quântica potencial (F_v/F_m) e efetiva do fotossistema II (ΦFSII), e taxa de transporte de elétrons (ETR, μmol m⁻² s⁻¹), em plantas de goiabeira 'Pedro Sato' e 'Paluma' (média±erro-padrão, n = 8) expostas a ar filtrado (AF) e a ar filtrado enriquecido com O₃ (AF + O₃)⁽¹⁾.

Tratamento	A _{sat}	F _v /F _m	ΦFSII	ETR
'Pedro Sato'				
AF	8,12±0,49Ba	0,84±0,002Aa	0,77±0,002Aa	151±19Aa
AF + O ₃	6,42±0,37Ab	0,81±0,001Ab	0,73±0,001Ab	97±8Ab
'Paluma'				
AF	10,56±0,51Aa	0,84±0,003Aa	0,78±0,003Aa	60±3Ba
AF + O ₃	6,95±0,47Ab	0,81±0,004Ab	0,74±0,002Ab	54±2Bb

⁽¹⁾Médias seguidas de letras iguais, minúsculas entre os tratamentos e maiúsculas entre as cultivares, não diferem, pelo teste t, a 5% de probabilidade.

na literatura e observados em 'Paluma': pontuações entre nervuras, na superfície adaxial do limbo das folhas mais velhas, que coalescem e progridem para as folhas mais novas com o decorrer da exposição ao O₃. Entretanto, 'Pedro Sato' e 'Paluma' apresentaram injúrias com tonalidades diferentes, bronzeada na primeira e avermelhada na segunda. Essas duas tonalidades geralmente são verificadas em plantas expostas ao ozônio e descritas como "bronzing" e "reddening", respectivamente (Sánchez et al., 2002). As injúrias foliares em 'Paluma' foram semelhantes às verificadas em estudos anteriores realizados com essa espécie (Furlan et al., 2007; Pina & Moraes, 2010). Contudo, as plantas que permaneceram em casa de vegetação sob ar filtrado não apresentaram nenhum tipo de injúria foliar.

No experimento em câmaras, as injúrias ocorreram em todas as fumigações com incidência de 100%. Porém, em 'Pedro Sato' (5%), o IIF foi menor do que em 'Paluma' (8%), mas sem diferença significativa. Em 'Paluma', as injúrias alcançaram até a classe 5, que corresponde a 76–100% da superfície do limbo com sintomas, o que não ocorreu em 'Pedro Sato'. Cabe ressaltar que, embora as concentrações de O₃ alcançadas no presente trabalho tenham sido baixas, mas realísticas, ainda houve manifestação de injúrias nas duas cultivares. No experimento em condições ambientais, assim como nas câmaras, as injúrias foram mais precoces, severas e incidiram sobre mais plantas de 'Paluma' (Tabela 3). No final da exposição, 30% das folhas desta cultivar apresentavam injúrias, em comparação a 19% das de 'Pedro Sato'. Na primeira

Tabela 3. Progressão das injúrias foliares (incidência de plantas com injúrias e média do índice de injúria foliar, IIF, em %) em plantas de goiabeira 'Pedro Sato' e 'Paluma' (n = 24), após exposição ao ambiente no PEFI, de fevereiro a maio de 2010, em São Paulo, SP⁽¹⁾.

Injúria	Dias de exposição ⁽¹⁾			
	0	30	60	90
	'Pedro Sato'			
Incidência (%)	0	0	46	75
IIF (%)	0	0b	1,4b	6,1b
	'Paluma'			
Incidência (%)	0	67	88	96
IIF (%)	0	3,4a	6,3a	17,3a

⁽¹⁾Médias seguidas de letras iguais entre as cultivares, não diferem pelo teste t, a 5% de probabilidade. A concentração acumulada de ozônio acima de 40 ppb (AOT40), aos 0, 30, 60 e 90 dias de exposição, foi de 52, 1.204, 2.284 e 3.249 ppb, respectivamente.

cultivar, as injúrias alcançaram as classes 4 (51 a 75% da superfície do limbo afetada) e 5 (76 a 100%), enquanto, em 'Pedro Sato', chegaram no máximo a 26–50%. Nos Estados Unidos e na Europa as injúrias foliares induzidas pelo O₃ foram descritas para muitas espécies arbóreas (Sánchez et al., 2002). No Brasil, além dos resultados obtidos para essas cultivares, não foram localizados registros de estudos semelhantes com outras espécies tropicais.

Quanto aos compostos secundários, observou-se que o ozônio causou redução significativa na quantidade de taninos em 'Pedro Sato'; para a cultivar Paluma, não houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 4). Entretanto, Rezende & Furlan (2009), ao avaliar plantas de 'Paluma' expostas a concentrações mais altas de O₃, verificaram correlação positiva entre a quantidade de injúrias foliares e o acúmulo de metabólitos secundários, o que comprova que o O₃ intensifica a síntese dessas substâncias nesta cultivar.

De acordo com Novak et al. (2003), em espécies sensíveis ao O₃, o "reddening" é uma das respostas iniciais do estresse oxidativo, podendo ser observado após poucos dias de exposição, mesmo sem qualquer dano ultraestrutural. A vermelhidão é causada pelo acúmulo de antocianinas, que atuam como fotoprotetores e antioxidantes contra diversos tipos de estresse, como luz, ozônio, seca e escassez de nutrientes (Neill & Gould, 2003). Em 'Paluma', o aumento nas concentrações de antocianinas induzido pelo O₃ tem um importante papel fotoprotetor (Rezende & Furlan, 2009). Fatores ambientais de estresse, incluindo O₃, são relatados como limitantes na capacidade das plantas em usar a energia luminosa incidente. Segundo Heath (2008), na ausência de

Tabela 4. Percentagem média de antocianinas e taninos em plantas de goiabeira 'Pedro Sato' e 'Paluma' (média±erro-padrão, n = 8), expostas a ar filtrado (AF) e a ar filtrado enriquecido com O₃ (AF + O₃)⁽¹⁾.

Tratamento	Antocianinas (%)	Taninos (%)
	'Pedro Sato'	
AF	0,75±0,17a	1,56±0,21a
AF + O ₃	0,64±0,14a	1,22±0,20b
	'Paluma'	
AF	0,56±0,09a	1,31±0,38a
AF + O ₃	0,61±0,18a	1,50±0,23a

⁽¹⁾Médias seguidas de letras iguais entre os tratamentos, não diferem pelo teste t, a 5% de probabilidade.

mecanismos adequados capazes de prevenir o dano potencial do acúmulo de energia de excitação nos fotossistemas, geralmente há redução na taxa de fixação de CO₂, que pode resultar em fotoinibição. Gould (2004) relata vários trabalhos que mostram a eficiência de antocianinas em reduzir tanto a frequência quanto a severidade de fotoinibição, além de proporcionar a recuperação do aparato fotossintetizante. Isso é indicativo da sensibilidade de 'Paluma' ao O₃, pois mesmo contando com essa proteção, a A_{sat} foi reduzida.

O crescimento das plantas de 'Pedro Sato' não foi afetado pela exposição ao O₃. Apesar de suas dimensões iniciais terem sido menores que as de 'Paluma', as plantas de 'Pedro Sato' apresentaram taxas de crescimento elevadas e alcançaram ou superaram as de 'Paluma' ao final da exposição (Tabela 5), inclusive quanto à média final de massa seca, significativamente maior (40,5±1,0 g) que em 'Paluma' (36,3±1,3 g). Apenas a razão raiz/parte aérea não diferiu entre as plantas das duas cultivares, com média de 0,50 em 'Paluma' e de 0,52 em 'Pedro Sato'. A menor taxa de crescimento de 'Paluma' pode ser consequência de sua maior sensibilidade ao O₃.

Tabela 5. Taxas de crescimento relativo (TCR, n = 24) em altura (cm cm⁻¹ por dia), diâmetro (mm mm⁻¹ por dia) e número de folhas por dia de plantas de goiabeira das cultivares Pedro Sato e Paluma após exposição ao ambiente no PEFI, de fevereiro a maio de 2010⁽¹⁾.

TCR	Dias de exposição		
	30	60	90
	'Pedro Sato'		
Altura	0,0339Aa (0,0003)	0,0187Ab (0,0002)	0,0128Ac (0,0004)
Diâmetro	0,0118Aa (0,0007)	0,0095Aab (0,0007)	0,0076Ab (0,0009)
Nº de folhas	0,0094Aa (0,0007)	0,0101Aa (0,0010)	0,0041Ab (0,0004)
	'Paluma'		
Altura	0,0032Ba (0,0004)	0,0035Ba (0,0004)	0,0026Bb (0,0003)
Diâmetro	0,0117Aa (0,0009)	0,0087Aab (0,0005)	0,0070Ab (0,0003)
Nº de folhas	0,0065Ba (0,0008)	0,0046Ba (0,0011)	0,0030Bb (0,0004)

⁽¹⁾Médias seguidas de letras iguais, minúsculas entre os período de exposição e maiúsculas entre as cultivares, não diferem entre si, pelo teste t, a 5% de probabilidade. Valores entre parênteses referem-se ao erro-padrão da média. A concentração acumulada de ozônio acima de 40 ppb (AOT40), aos 0, 30, 60 e 90 dias de exposição, foi de 52, 1.204, 2.284 e 3.249 ppb, respectivamente.

Conclusão

A goiabeira 'Pedro Sato' responde com menor intensidade ao estresse induzido pelo O₃ do que a cultivar Paluma; entretanto, não pode ser considerada tolerante, pois apresenta danos fotoquímicos, injúrias foliares e alterações nos conteúdos de metabólitos secundários quando exposta a esse poluente.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pelo apoio financeiro.

Referências

- AMERICAN HERBAL PHARMACOPEIA. **Writing guidelines:** analytical methods and quantitative standards. Available at: <http://www.herbal-ahp.org/analytic_guide.htm>. Accessed on: 24 Feb. 2011.
- ASHMORE, M.R. Assessing the future global impacts of ozone on vegetation. **Plant, Cell and Environment**, v.28, p.949-964, 2005.
- CALATAYUD, V.; MARCO, F.; CERVERÓ, J.; SÁNCHEZ-PEÑA, G.; SANZ, M.J. Contrasting ozone sensitivity in related evergreen and deciduous shrubs. **Environmental Pollution**, v.158, p.3580-3587, 2010.
- CETESB. **Ar.** Disponível em: <www.cetesb.sp.gov.br/ar/>. Acesso em: 14 set. 2011.
- CHO, K.; TIWARI, S.; AGRAWAL, S.B.; TORRES, N.L.; AGRAWAL, M.; SARKAR, A.; SHIBATO, J.; AGRAWAL, G.; KUBO, A.; RAKWAL, R. Tropospheric ozone and plants: absorption, responses, and consequences. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, v.212, p.61-111, 2011.
- DE TEMMERMAN, L.; BELL, J.N.B.; GARREC, J.P.; KLUMPP, A.; KRAUSE, G.H.M.; TONNEIJCK, A.E.G. Biomonitoring of air pollutants with plants – considerations for the future. In: KLUMPP, A.; ANSEL, W.; KLUMPP, G. (Ed.). **Urban air pollution, bioindication and environmental awareness**. Göttingen: Curvillier, 2004. p.337-373.
- DIAS, A.P.S.; RINALDI, M.C.S.; MORAES, R.M. Alterações bioquímicas associadas a injúrias foliares visíveis em plantas jovens de *Psidium guajava* 'Paluma' mantidas em ambiente contaminado por ozônio. **Hoeheia**, v.34, p.231-238, 2007.
- FUHRER, J.; SKÄRBY, L.; ASHMORE, M.R. Critical levels for ozone effects on vegetation in Europe. **Environmental Pollution**, v.97, p.91-106, 1997.
- FURLAN, C.M.; MORAES, R.M.; BULBOVAS, P.; DOMINGOS, M.; SALATINO, A.; SANZ, M.J. *Psidium guajava* 'Paluma' (the guava plant) as a new bio-indicator of ozone in the tropics. **Environmental Pollution**, v.147, p.691-695, 2007.

- FURLAN, C.M.; MORAES, R.M.; BULBOVAS, P.; SANZ, M.J.; DOMINGOS, M.; SALATINO, A. *Tibouchina pulchra* (Cham.) Cogn., a native Atlantic Forest species, as a bio-indicator of ozone: visible injury. **Environmental Pollution**, v.152, p.361-365, 2008.
- GEROSA, G.; MARZUOLI, R.; ROSSINI, M.; PANIGADA, C.; MERONI, M.; COLOMBO, R.; FAORO, F.; IRITI, M. A flux-based assessment of the effects of ozone on foliar injury, photosynthesis, and yield of bean (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Borlotto Nano Lingua di Fuoco) in open-top chambers. **Environmental Pollution**, v.157, p.1727-1736, 2009.
- GOULD, K.S. Nature's Swiss army knife: the diverse protective roles of anthocyanins in leaves. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v.5, p.314-320, 2004.
- HEATH, R.L. Modification of the biochemical pathways of plants induced by ozone: what are the varied routes to change? **Environmental Pollution**, v.155, p.453-463, 2008.
- KARNOSKY, D.F.; PERCY, K.E.; CHAPPELKA, A.H.; SIMPSON, C.; PIKKARAINEN, J. **Air pollution, global change and forests in the new millennium**. Oxford: Elsevier, 2003. 469p.
- KITAO, M.; LÖW, M.; HEERDT, C.; GRAMS, T.; HÄBERLE, K.; MATYSSEK, R. Effects of chronic elevated ozone exposure on gas exchange responses of adult beech trees (*Fagus sylvatica*) as related to the within-canopy light gradient. **Environmental Pollution**, v.157, p.537-544, 2009.
- MORAES, R.M.; BULBOVAS, P.; FURLAN, C.M.; DOMINGOS, M.; MEIRELLES, S.T.; DELITTI, W.B.C.; SANZ, M.J. Physiological responses of saplings of *Caesalpinia echinata* Lam., a Brazilian tree species, under ozone fumigation. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.63, p.306-312, 2006.
- NEILL, S.O.; GOULD, K.S. Anthocyanins in leaves: light attenuators or antioxidants? **Functional Plant Biology**, v.30, p.865-873, 2003.
- NOVAK, K.; SKELLY, J.M.; SCHAUB, M.; KRÄUCHI, N.; HUG, C.; WERNER, L.; BLEULER, P. Ozone air pollution and foliar injury development on native plants of Switzerland. **Environmental Pollution**, v.125, p.41-52, 2003.
- ORENDOVICI-BEST, T.; SKELLY, J.M.; DAVIS, D.D.; FERDINAND, J.A.; STEVENSON, R.E. Ozone uptake (flux) as it relates to ozone-induced foliar symptoms of *Prunus serotina* and *Populus maximowizii*. **Environmental Pollution**, v.151, p.79-92, 2008.
- PINA, J.M. **Trocas gasosas, sintomas foliares visíveis e atividade enzimática antioxidativa em plantas jovens de *Psidium guajava* 'Paluma' expostas ao ozônio no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga**. 2010. 129p. Tese (Doutorado) - Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo.
- PINA, J.M.; MORAES, R.M. Gas exchange, antioxidants and foliar injuries in saplings of a tropical woody species exposed to ozone. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.73, p.685-691, 2010.
- RELATÓRIO de qualidade do ar do Estado de São Paulo: 2009. São Paulo: Companhia Ambiental do Estado de São Paulo, 2010. 290p. (CETESB. Série relatórios).
- REZENDE, F.M. de; FURLAN, C.M. Anthocyanins and tannins in ozone-fumigated guava trees. **Chemosphere**, v.76, p.1445-1450, 2009.
- RYAN, A.; COJOCARIU, C.; POSSELL, M.; DAVIES, W.J.; HEWITT, C.N. Defining hybrid poplar (*Populus deltoides* × *Populus trichocarpa*) tolerance to ozone: identifying key parameters. **Plant, Cell and Environment**, v.32, p.31-45, 2009.
- SÁNCHEZ, M.J.S.; PEÑA, G.S.; LORENTE, V.C.; GALLEGO, M.T.M.; ALBERT, J.C. **La contaminación atmosférica en los bosques**: guía para la identificación de daños visibles causados por ozono. Madrid: Ministerio del Medio Ambiente, 2002. 165p.
- THEN, C.H.; HERBINGER, K.; LUIS, V.C.; HEERDT, R.; MATYSSEK, R.; WIESER, G. Photosynthesis, chloroplast pigments, and antioxidants in *Pinus canariensis* under free-air ozone fumigation. **Environmental Pollution**, v.157, p.392-395, 2009.
- WEI, C.; SKELLY, J.M.; PENNYPACKER, S.P.; FERDINAND, J.A.; SAVAGE, J.E.; STEVENSON, R.E.; DAVIS, D.D. Influence of light fleck and low light on foliar injury and physiological responses of two hybrid poplar clones to ozone. **Environmental Pollution**, v.130, p.215-227, 2004.

Recebido em 3 de abril de 2011 e aprovado em 2 de setembro de 2011