

Marcelo Rossini da Cunha

A influência da poluição do ar em Curitiba sobre o
bioindicador *Nicotiana tabacum* L. (SOLANACEAE)
Var. Bel-W3

**Dissertação apresentada como requisito
parcial à obtenção do grau de Mestre
pelo Curso de Pós-Graduação em
Botânica do Departamento de Botânica
da Universidade Federal do Paraná.**

**Orientador: Prof. Dr. Yedo Alquini
Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Katia
Christina Zuffellato-Ribas**

**Curitiba - PR
2004**

Nenhum outro sucesso pode compensar o fracasso no lar. A mais humilde cabana onde o amor prevalece através de uma família unida é de maior valor para Deus e a humanidade futura que qualquer outra riqueza. Em tal lar Deus pode e irá operar milagres.

David O. McKay

SUMÁRIO

1 Introdução	1
2 Materiais e Métodos	11
3 Resultados	
3.1 Comprimento do caule.....	17
3.2 Massa foliar.....	19
3.3 Massa seca foliar.....	20
3.4 Área foliar	21
3.5 Área específica foliar.....	23
3.6 Massa específica foliar.....	24
3.7 Clorofilas.....	25
3.8 Área de necrose foliar.....	27
3.9 Microscopia Eletrônica e Análise Física.....	32
4 Discussão	47
5 Conclusões	56

Lista de Tabelas

Tabela 1: ANOVA para comprimento do caule, área foliar, massa foliar, massa seca, massa seca, área específica foliar e massa específica foliar.....	17
Tabela 2: Teste t para comprimento do caule.....	18
Tabela 3: Teste t para massa foliar.....	19
Tabela 4: Teste t para massa seca foliar.....	21
Tabela 5 Teste t para área foliar.....	23
Tabela 6: Teste t para área específica foliar.....	24
Tabela 7: Teste t para massa específica foliar.....	25
Tabela 8: ANOVA para clorofilas a, b e total.....	26
Tabela 9: Tabela de contingência para área de necrose foliar.....	28

Lista de Figuras

Figura 1: Malha de Transporte Público de Curitiba	2
Figura 2: Mapa das áreas Verdes de Curitiba	3
Figura 3: Detalhe da semeadeira de isopor	12
Figura 4: Detalhe das caixas de auto-rega	13
Figura 5: Mosaico formado por fotos digitais	29
Figura 6: Interpretação da imagem da figura 5 pelo Image Analyst	30
Figura 7: Aspecto das folhas após quatro dias de coleta	31
Fig 8: Aspecto em microscopia eletrônica de varredura (MEV), da face adaxial da folha de <i>Nicotiana tabacum</i>, sem lesão e com as células integras	32
Figura 9: Face abaxial da folha de <i>Nicotiana tabacum</i>, sem lesão e com as células íntegras (MEV)	33
Figura 10: Tricoma tector colabado circundado por células epidérmicas normais (MEV)	34
Figura. 11: Aspecto do estômato com poro obstruído por material particulado (MEV)	34
Figura 12: Lesões cuticulares causadas por material particulado (seta vermelha) (MEV)	35
Figura 13: Aspecto geral da superfície foliar, destacando intensa área necrosada (MEV)	35
Figura 14: Aspecto geral da superfície foliar, de área não afetada (MEV)	36
Figura 15: Detalhe de um estômato na área com necrose (MEV)	37
Figura 16: Aspecto geral do limbo foliar de <i>Nicotiana tabacum</i>, em secção transversal, de área não afetada	37
Figura. 17: Aspecto geral do limbo foliar de <i>Nicotiana tabacum</i>, em secção transversal, de área afetada (MEV)	38
Figura 18: Detalhe de área necrosada em início de formação (MEV)	39
Figura 19: Idem, com tricoma colabado (MEV)	39
Figura 20: Superfície foliar, destacando um estômato normal e um teratológico (MEV)	40
Figura 21: Detalhe do estimato teratológico da figura anterior (MEV)	40
Figura 22: detalhe de tricoma tector infectado por fungos (MEV)	41
Figura 23: Área analisada pelo EDS Ponto A1	42
Figura 24: Espectro de partícula do Ponto A1 por difração de raios X	42
Figura 25: Área analisada pelo EDS Ponto Ponto A2	43
Figura 26: Espectro de partícula do Ponto A2 por difração de raios X	43
Figura 27: Espectro de partícula do Ponto B1 por difração de raios X	44
Figura 28: Espectro de partícula do Ponto C2 por difração de raios X	44
Figura 29: Espectro de partícula do Ponto C2 por difração de raios X	45
Figura 30: Espectro de partícula do Ponto C1 por difração de raios X	45
Figura 31: Espectro de partícula do Ponto C2 por difração de raios X	46

Agradecimentos

A Deus a quem tudo devo em cada detalhe. Por ter me dado saúde, vida e a condição de encontrar e conhecer todas as pessoas que me ajudaram e sem as quais nada teria feito.

A minha esposa Juliana Kolbe que sem a ajuda e o incentivo eu não terminaria esse trabalho.

Aos meus filhos Akemi, Eduardo e Marina, pelo amor e compreensão e pelo tempo e atenção que eles me permitiram dividir com esse trabalho.

Ao meu orientador Yedo Alquini, sem o qual eu não teria conseguido me formar um biólogo, ou fazer mesmo que o mínimo passo neste trabalho. Pelo apoio na fase mais difícil de minha vida, pela amizade e atenção, por tantas coisas que nada que possa ser escrito ou falado poderia expressar corretamente minha gratidão.

Aos meus pais Rafael Danton Teixeira da Cunha e Célia Maria Rossini da Cunha, pela atenção e cuidado que tem comigo, por se importarem com cada detalhe, por sempre estarem presentes e dispostos a ajudar, pelo amor e importância eterna que tem em minha vida.

A minha irmã Andréa Rossini da Cunha por ser minha irmã de verdade.

As mestrandas e ex-orientadas do professor Yedo, Wanessa Muler Bujokas e Márcia Bünchen, por estabelecerem as bases e parâmetros para que esse trabalho fosse realizado. Sem seu esforço e dedicação tudo teria sido mais difícil.

A professora Cleusa Bona, pela amizade e ajuda e pela dedicação e carinho pelo que faz me deram o desejo de trabalhar com a botânica.

Aos professores Armando Carlos Cervi e William Rodrigues, pela ajuda, atenção e socorro em momentos importantes.

Às professoras Maria Regina Torres Boeger e Thelma Alvin Veiga Ludwig, pela atenção, orientação e pelos puxões de orelha.

À professora Katia Christina Zuffellato-Ribas, pelo apoio e orientação.

Ao professor Fávio Kirshner e o aluno Pyramon Acioli pela ajuda com os programas de imagem de satélite e as fotos digitais.

Ao professor James Hopper pela ajuda com a estatística por me ensinar direito esse negócio complicado para tanta gente.

Aos funcionários Narciso Augusto Sockow de Castro, pelas conversas no café e apoio e ajuda. Nilson pelos empréstimos de material e por sempre estar disposto a ajudar. José Carlos Teixeira Silva, pelas balas e pela atenção especial que é de grande importância conforto saber da sua segurança e eficiência a qualquer hora. Marilina pela ajuda com o experimento das clorofilas, ao Renato, José Augusto Cunha e Raul pela ajuda com as plantas na casa de vegetação.

Aos amigos que sempre estiveram dispostos a ajudar. A todos os colegas, principalmente as meninas que me agüentaram dois anos.

A CAPES e CnPQ, pelo financiamento. Assim como a Transforma Engenharia pela doação do material que possibilitou a fase inicial do experimento.

Aos responsáveis pelos pontos da Santa Casa, Colégio Anjo da Guarda, CES Lina Maria e Capela do Portão da Igreja de Jesus Cristo dos Santos dos Últimos Dias por permitirem a implementação do trabalho em suas dependências.

RESUMO

Muitos estudos tem sido feitos sobre poluição do ar com *Nicotiana tabacum* L.(SOLANACEAE) variedade Bel-W3 comparando-se cidades ou áreas urbanas. Bel-W3 é uma variedade sensível ao ozônio, que reage ao poluente com salpicos cloróticos e necróticos na superfície foliar também com seu desenvolvimento diminuído, devido as toxinas secundarias produzidas a partir desse poluente. Com o objetivo de verificar se a poluição em diferentes regiões de Curitiba poderiam ser verificadas com esse bioindicador, foram colocadas em seis pontos distribuídos por três regiões geograficamente distintas em Curitiba 108 plantas distribuídas igualmente por essas regiões. Curitiba possui 1.603.462 habitantes e 2,4 habitantes por veículos. A cidade possui um bairro industrial e foi dividida em vias estruturais que dificultam a dispersão dos poluentes. Baseado na conformação dessas vias as regiões foram divididas em sub-regiões mais e menos poluídas para comparação de medias de desenvolvimento das plantas. Foram realizadas análises de desenvolvimento, estruturais, química e físicas. Dentre os pontos analisados o ponto da Capela do Portão e do Centro Politécnico da UFPR foram os mais prejudicados. Das regiões estudadas a Região Sudoeste apresentou maior índice de lesão foliar causado pelo ozônio .a Região Central foi onde as plantas foram menos afetadas.

Palavras chave: Bel-W3, Poluição, bioindicadores Curitiba.

ABSTRACT

Many studies comparing air pollution of cities or urban areas have been done with *Nicotiana tabacum* L (SLANACEAE) var. Bel-W3. This is an ozone sensitive variety, and has as a sign of the pollutant necrotic and chlorotic points in leaf surface, an also with a decrease in developing due to secondary toxin produced with ozone action. With the objective to verify if changes on a lesser scale level could be verified with this bioindicator, 108 plants were equally distributed over 6 points in 3 geographically different regions under Curitiba city. Curitiba has a population of 1.603.462 people and 2,4 vehicles per inhabitant. The city has an industrial district as was divided in structural traffic ways that make the dispersion of pollutant more difficult. Using this ways structure the regions were divided in sub-regions more an less polluted to compare plant responses. Developing, structural physical and chemical analysis were made. Among analyzed points the plants were mmore affected at Potão chapel and Centro Politécnico of UFPR. Southwest region presented the greater index of leaf injury by ozone and downtown was the less affected region.

Key words:Bel-W3, Pollution, bioindicator, Curitiba.

1. INTRODUÇÃO

A cidade de Curitiba possui atualmente uma população de 1.603.462 habitantes distribuída por uma área de 432,17km². Está localizada a 25°25'40" S e 49°16'23" W, numa altitude de 908m. Sua economia é baseada nos serviços (65,84%), indústria (34,13%) e agropecuária (0,03%), com uma renda per capita de aproximadamente U\$8 mil/ano (<http://www.paraná.gov.br>, 2004).

Curitiba tem nas ruas um veículo para cada 2,4 pessoas que habitam a cidade. A malha urbana é distribuída em vias estruturais (em vermelho na Figura 01) de tráfego de veículos, que partem do centro da cidade em direção aos bairros.

Essas vias são formadas por uma avenida central que possui corredores de ônibus de grande porte, articulados ou bi-articulados. Esses corredores ainda possuem duas vias para tráfego de carros ladeados por edifícios, e por grandes avenidas chamadas vias rápidas, que podem também formar corredores de edifícios.

O zoneamento da cidade restringe a construção de edifícios com mais de seis andares a essas áreas, formando, com o desenvolvimento da cidade, paredões de edifícios o que segundo DANNI-OLIVEIRA (1999), dificulta a dispersão de poluentes.

Como essas vias são as áreas de mais intenso tráfego de veículos na cidade, elas podem dar origem a corredores onde são formados e acumulados poluentes que podem ter sua dispersão direcionada por condições climáticas ou ambientais a locais diferentes dos esperados se a cidade não tivesse esse zoneamento (Figura 01).

Curitiba possui uma área verde de 55m² por habitante (<http://www.curitiba.pr.gov.br>). A maioria das áreas verdes do município está localizada nas regiões norte e noroeste e sul sudeste da cidade (Figura 02). A parte central da região sul é considerada a região menos arborizada, com menos parques e refúgios verdes.

Outro aspecto a ser considerado é que há um bairro da cidade destinado a atividade industrial. Assim há duas fontes distintas de poluição: a veicular, dispersa

por toda a cidade e a industrial que pode estar restrita ao bairro ou se dispersar pela cidade.

Segundo PIGNATA et al. (1999) o nível de tráfego, nível industrial e distância de rios são variáveis a se ter em mente quando se selecionam pontos análogos em um monitoramento passivo de áreas urbanas.

Fazem-se necessários estudos que mostrem quando esses poluentes estão presentes, em quais locais eles podem atingir níveis que afetem o comportamento dos seres vivos, para se fazer um melhor direcionamento das ações de prevenção.

Desde 1930 quando foram registrados na Europa os primeiros casos de poluição de origem antrópica com potencial para causar dano a saúde humana até a presente data, foram identificados 3000 poluentes antropogênicos diferentes (BRANCO; MUGEL, 1999). Fontes de combustão, especialmente veículos, emitem aproximadamente 500 produtos, mas somente 200 tem concentrações para causar um impacto suficiente para serem investigados (FENGER, 1999).

Nos últimos 50 anos, o número de carros no mundo dobrou e a população das grandes cidades teve seu número aumentado quatro vezes (FENGER, 1999).

Embora todas as grandes cidades convivam diariamente com a poluição do ar e seus efeitos, quando a poluição não é muito alta esses efeitos são facilmente confundidos com os de outras doenças (BRANCO; MUGEL, 1999). A poluição pode ser ruim o suficiente para produzir alterações pulmonares em seres humanos (SALDIVA et al. 1995).

Se considerarmos a cidade de Curitiba como um ecossistema onde a estrutura física da cidade seria a do ecossistema e a população da cidade um componente de origem biológica desse ecossistema, podemos estudar a poluição como parte da interação entre a população e o meio ambiente.

A estrutura física do ambiente urbano pode incluir a estrutura da cobertura florestal, tamanho e tempo em que foram distribuídas as ruas ou as árvores em parques (FLORES et al. 1998). Sendo assim, o manejo de áreas verdes e parques, o

controle das fontes de água e as mudanças na organização estrutural de ruas e avenidas podem alterar as relações desse ecossistema.

Em Curitiba existem áreas verdes isoladas na periferia em região central com pouca arborização (figura 2). Com o reconhecimento de áreas onde o arranjo urbano prejudica a vida da população, podem ser efetuadas propostas de solução como os corredores de espaços verdes sugeridos por FLORES et al. (1998) em seu trabalho na cidade de Nova Iorque.

Os sistemas de planejamento urbano que levam em conta fatores ambientais trabalham com a conformação geológica da cidade, estrutura das edificações, climatologia e fatores populacionais como o tamanho da população, quantidade de veículos (FLORES et al. 1998, LYONS et al. 2003) e até fatores econômicos e sociais (YOON; LEE, 2003).

Embora estudos de quantificação e dispersão de elementos poluidores possam prover uma valiosa ferramenta, a utilização de bioindicadores pode oferecer parâmetros comparativos com aspectos de saúde humana. Os bioindicadores podem adquirir maior significado quando um estudo mais criterioso das fontes de poluição das cidades for realizado, oferecendo assim melhores parâmetros de comparação (WOLTERBEEK, 2002).

A poluição do ar pode produzir nas plantas alterações tanto em nível genético (GUIMARÃES et al. 2000, DIZENGREMEL, 2001), quanto em nível de desenvolvimento (GODZIK; MANNING, 1998, LARSEN; CHARMICHAEL, 2000, BÜNDCHEN, 2001).

Esses fatores de desenvolvimento podem incluir área e massa foliar, comprimento do caule e níveis de componentes que afetem diretamente o desenvolvimento da planta como a clorofila e algumas enzimas.

A poluição geralmente irá agir prejudicando o desenvolvimento da planta, causando a diminuição da área foliar (TAYLOR; FROST, 1992, GRATANI; CRESCENTE; PETRUZZI 1999) assim como a expansão de folhas jovens e a

redução da distribuição de nutrientes ao longo da planta (GRATANI; CRESCENTE; PETRUZZI, 1999).

A diminuição da área disponível para a fotossíntese não é compensada por um aumento na espessura foliar como acontece em situações de sol e sombra, pois em ambientes poluídos a espessura das camadas foliares também pode estar diminuída (BÜNDCHEN, 2001) podendo prejudicar todas as fases de desenvolvimento da planta.

Segundo STRIBLEY; ASHMORE (2002), o alongamento dos caules também pode ser prejudicado tendo como consequência direta a diminuição do tamanho da planta, um crescimento incompleto.

O desenvolvimento das plantas é afetado pela entrada de gases tóxicos provenientes da poluição urbana como óxidos de enxofre (SO_x), óxidos de carbono (CO_x), óxidos de nitrogênio (NO_x), material particulado (poeira) e o ozônio (O_3).

Níveis elevados de óxidos de enxofre são típicos de áreas com grande atividade industrial. Dos gases tóxicos, o enxofre é o que causa maior injúria para a vida da planta (LARCHER, 2000). Níveis altos de enxofre causam o fechamento dos estômatos e folhas de plantas próximas a fontes de dióxido de enxofre (SO_2) murcham mais rapidamente que as de outras áreas (YUNUS et al. 1985). Se a poluição causada pelo enxofre não tiver a ação sinérgica de outros elementos ela pode ser um estímulo para a planta se prevenir quanto à entrada de mais poluição (TAIZ; ZIEGER, 1998).

Os óxidos de nitrogênio são lançados no ar principalmente pelas emissões veiculares e são os poluentes típicos da área central de grandes centros urbanos (OLCESE; TOSELLI, 2002). Por ser causado pela reação de combustão com o nitrogênio do ar, o controle das emissões desse poluente é problemático (BRANCO; MUGEL, 1999). Gases poluentes como SO_2 e NO_x entram nas células através da abertura dos estômatos, seguindo o mesmo padrão de difusão do dióxido de carbono (CO_2). Esses gases são chamados de fotooxidantes, por reagirem com a luz solar e originarem ozônio (SAITO; NAGAO; TANAKA, 2002).

Além de encobrir a luz do sol nas folhas das plantas, a poeira bloqueia os estômatos e diminui a condutividade ao CO₂, interferindo também no fotossistema II (TAIZ; ZIEGER, 1998).

O ozônio é um poluente secundário formado na atmosfera por um complexo conjunto de reações químicas envolvendo óxidos de nitrogênio, hidrocarbonetos e a luz solar (SAITANIS, KARADINOS, 2001). O ozônio troposférico é amplamente reconhecido como o poluente do ar de maior fitotoxicidade, podendo afetar muitas espécies tanto florestais (DIZENGREMEL, 2001) quanto agrícolas, prejudicando a produção em locais próximos as suas áreas de formação (LORENZINI; NALI; BIAGIONI, 1995, FUHRER, BOOKER, 2003). Seu acúmulo é também altamente prejudicial ao homem ocasionando diversas doenças crônicas (WEATHERLEY; TIMMIS, 2001).

O tabaco é uma das espécies vegetais mais utilizadas como indicador de poluição do ar (BENNETT; BUCHEN, 1995). A variedade Bel-W3 é a variedade de tabaco mais utilizada para esse fim por ser a mais sensível ao ozônio e por responder ao poluente com lesões características. Essa variedade foi descoberta nos Estados Unidos nos anos 50 e responde a níveis de ozônio acima de 30 ppb com pontos necróticos em sua superfície foliar (VERGÉ; CHAPUIS; DELPOUX, 2002)¹.

Dentre os vários cultivares de tabaco estudados por RIBAS et al. (1998) a variedade Bel-W3 foi a que apresentou maior sensibilidade, maior número de folhas afetadas e maior correlação entre os níveis de injúria e a quantidade de ozônio no ar.

A ação tóxica do ozônio se inicia na planta ao se difundir pelos espaços apoplásticos. Ao penetrar nesses espaços, o ozônio causa a oxidação de enzimas e proteínas lá existentes. Proteínas derivadas pela ação do ozônio podem, em plantas sensíveis, alterar o fluxo de íons, ativar fosforilases, proteína-quinases, e indiretamente a atividade de GTPases, proteínas ativadoras de mitógenos, NADPH oxidases, amonoxidases e peroxidases e também acelerar a senescência. (FUHRER, BOOKER, 2003).

¹ Larsen and Heck, 1976

O ozônio na planta pode reagir com a célula em três fases, na fase sólida com a cutícula, na fase gasosa com carboidratos emitidos pela planta e na fase líquida, no espaço apoplástico. No apoplasto, a planta tenta detoxificar o ozônio através do ascorbato que reage com o ozônio formando dehidroascorbato, água e oxigênio. Elevadas taxas de CO₂ podem também proteger o aparato fotossintético. Contudo, dependendo do nível de ozônio absorvido pela planta esse mecanismo pode ser insuficiente, o que acarretará na alteração de proteínas e na absorção do ozônio pela célula (FUHRER; BOOKER, 2003).

Na membrana plasmática, o ozônio penetra pela fase lipídica causando o enrijecimento ou dissociação da membrana (FUHRER; BOOKER, 2003). Isso leva a ruptura das mesmas e posterior morte celular acarretando em salpicos cloróticos e necróticos (manchas climáticas) e amarelamento das folhas (SAITANIS; KARADINOS, 2002).

O ozônio afeta também o metabolismo das plantas prejudicando a atividade e a síntese da Rubisco e fosfoenolpiruvato carboxilase, podendo prejudicar a respiração celular e até alterar a expressão gênica (DIZENGREMEL, 2001, FUHRER; BOOKER, 2003). Diminui também os teores de clorofila em plantas de *N. tabacum* var. Bel-W3 afetando os teores de clorofila a, b e total (SAITANIS; RIGA-KARADINOS; KARADINOS, 2001). Dentro da célula existe a tentativa de detoxificação através do jasmonato, estando sua eficiência sujeita aos níveis de ozônio (LANGEBARTELS et al. 2002).

Ao afetar tão drasticamente o metabolismo da planta, o ozônio causa a ativação de mecanismos de defesa contra a entrada de gases tóxicos, podendo haver diminuição no movimento dos estômatos (TAIZ; ZIEGER, 1998), quantidade de estômatos (SAITANIS; KARADINOS, 2002), fotossíntese e crescimento das plantas (TAIZ; ZIEGER, 1998, LARCHER, 2000).

As plantas de *N. tabacum* var. Bel-W3 possuem uma alta correlação entre os níveis de ozônio no ar e a quantidade de injúria na planta (manchas climáticas). Quanto maiores são os níveis de ozônio maiores são as áreas da superfície foliar

necrosada, tanto em trabalhos com a fumigação direta de ozônio (SAITANIS; KARADINOS, 2001), quanto em trabalhos com a planta exposta ao ambiente (CETESB, 2001, VOLLENWEIDER; OTTIGER; GÜNTHARDT-GOERG, 2003).

Essa relação parece apresentar limites, pois altos níveis de ozônio afetam severamente as plantas, diminuindo o número de pontos cloróticos e necróticos nas folhas. Expondo as plantas a câmaras de fumigação com quantidade controlada de ozônio de 90, 135 e 180ppb. SAITANIS ; KARADINOS (2002) constataram que as plantas expostas à quantidade de 90ppb de ozônio possuíam maior relação entre injúria e quantidade de ozônio que as expostas a maior quantidade. Foi observado no mesmo trabalho que folhas recentemente adultas eram mais sensíveis ao ozônio que folhas plenamente adultas ou jovens em expansão.

A formação de ozônio no ar é maior nos períodos do ano de maior incidência da luz solar e menor precipitação. Sendo assim os meses de primavera e verão são os que têm maiores níveis de ozônio (GALLELLI et al. 2002, NOLLE et al. 2002, GANGIOTI et al. 2002, SAITO; NAGAO; TANAKA, 2002), sendo que os maiores níveis são encontrados no final da primavera início do verão (RIBAS et al.1998, NOLLE et al. 2002).

Na cidade de Curitiba, historicamente os meses de primavera tem sido os de maior incidência de ozônio. No mês de outubro de 2000 houve 25 dias onde os níveis de ozônio na cidade industrial foram considerados inadequados ou seja entre 160 e 400 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (IAP, 2000). No ano de 2001 houve uma diminuição para 8 dias mas o mês de outubro continuou a ser o que apresentou os maiores níveis de ozônio na cidade seguido de novembro (IAP, 2001).

As condições ambientais influem de modo acentuado na permeabilidade do ozônio na planta. A umidade do ar pode influenciar no mecanismo de abertura e fechamento dos estômatos. As injúrias na área foliar de Bel-W3 foram maiores em condições de pouco vento e umidade que em condições de muito vento e seca (PEÑUELAS et al. 1998).

As áreas de formação de poluentes derivados da combustão veicular nem sempre possuem os maiores níveis de ozônio. A reação que forma o ozônio pode ocorrer longe dos locais de produção de poluentes fotoquímicos e ainda esse gás pode ser transportado por vários quilômetros (NOLLE et al. 2002, GANGIOTI et al. 2002).

Os gases poluentes podem ser dispersos pela atmosfera tanto horizontal quanto verticalmente. Sua dispersão é afetada por correntes atmosféricas e condições do tempo como temperatura, umidade, inversão térmica, entre outros. Mesmo assim a topografia do ambiente como vales, pode reter poluentes aumentando sua concentração nesses locais (JAZCIKEVICH; GARCIA; RUIZ-SUÁRES, 2003).

Sendo assim, áreas urbanas sem tráfego intenso de automóveis e sem indústrias, podem ter altos níveis de poluentes pelo fato desses poluentes serem transportados para aquelas áreas.

Utilizando o conceito de saúde de ecossistemas (RAPPORT, 2002) podemos dizer que a poluição é uma doença crônica em ecossistemas urbanos, que as tentativas de solução dessa doença tem sido de pouca eficiência por não procurarem resolver os problemas estruturais causadores dessa doença (HUESEMANN, 2001).

Conhecer as áreas onde os poluentes causam maior dano é um passo importante no tratamento de doenças. As alterações no desenvolvimento da planta podem indicar em que áreas da cidade a poluição está afetando mais a vida dos seres vivos.

Com o uso de um bioindicador específico para ozônio podem-se detectar alterações nos níveis desse poluente e dos poluentes que o originam, pela verificação dos pontos de maior concentração de poluentes através dos níveis de desenvolvimento e injúria na planta. Pode-se saber assim, a contribuição dos mais significativos poluentes atmosféricos na poluição de Curitiba razão do presente trabalho.

2 MATERIAL E MÉTODOS

A cidade de Curitiba foi dividida em três regiões delimitadas por barreiras geográficas naturais existentes na cidade, a serra que passa pela região do alto da rua XV de Novembro e a serra que vai do Campo Comprido à Fazendinha (Figura 1).

Em cada uma destas regiões foram escolhidos dois pontos um em uma área pouco arborizada com grande tráfego de veículos e outro em área arborizada com pouco tráfego de veículos, perfazendo um total de seis pontos.

A escolha dos pontos, assim como a discriminação entre ponto muito ou pouco poluído, tomou como base dados gerados pelo Projeto ProAr de educação ambiental, que vem realizando, desde 1995, atividades de monitoramento de ozônio em vários pontos da cidade (MALHADAS et al. 2002).

As áreas mais arborizadas e com menor tráfego foram tidas como áreas poluídas e as outras como não poluídas (Figura 2)

Os pontos escolhidos foram assim divididos por região e denominados:

Região A

- Ponto A1 - Centro politécnico da UFPR, atrás da casa de vegetação do Departamento de Botânica. Bairro Jardim das Américas, ponto pouco poluído.
- Ponto A2- Imprensa da UFPR, no antigo horto da floresta. Bairro Cabral, ponto poluído

Região B

- Ponto B1 - Colégio Anjo da Guarda. Centro, ponto pouco poluído.
- Ponto B2 - Jardim frontal da Santa Casa de Misericórdia. Centro, ponto poluído.

Região C

- Ponto C1 - Jardim da Capela do Portão da Igreja de Jesus Cristo dos Santos dos Últimos Dias. Bairro Portão, ponto poluído, próximo à cidade industrial.

- Ponto C2 - Jardim do PAC Lina Maria Martins Moreira. Bairro, Campo Comprido, ponto pouco poluído.



Figura. 01: Malha de transporte público (fonte: <http://www.curitiba.pr.gov.br>). As linhas vermelhas indicam as vias estruturais, os pontos em azul indicam os locais de amostragem.

CURITIBA - ÁREAS VERDES

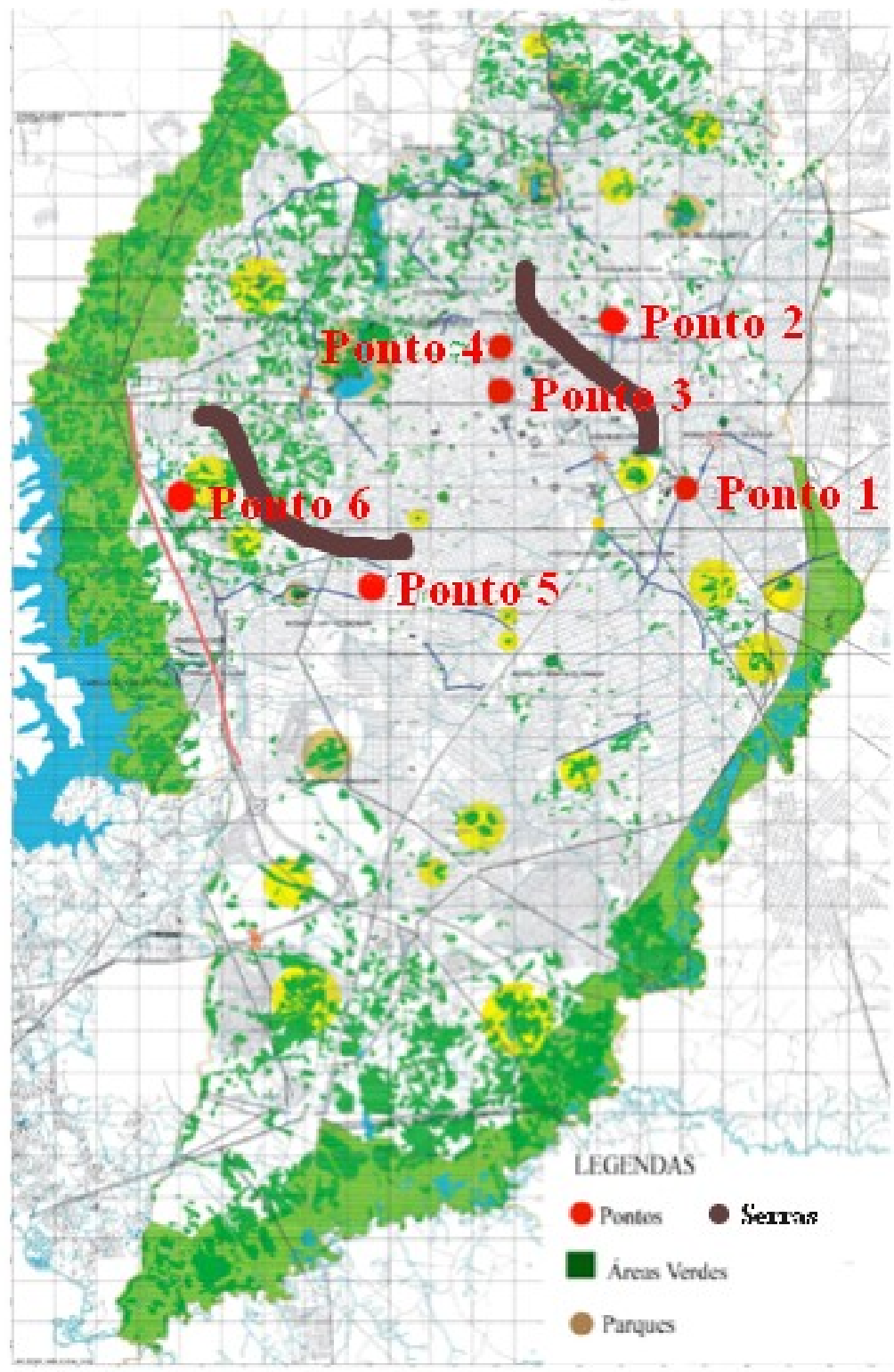


Figura 2 : Mapa das áreas verdes de Curitiba- PR, modificado (fonte:<http://www.curitiba.pr.gov.br>, 2004)

Foram colocadas trinta plantas em cada ponto, (180 ao todo) sendo que dessas, dezoito foram utilizadas para análises de desenvolvimento e doze para análises de morfo-anatomia e teor de clorofila, num delineamento inteiramente casualizado.

As sementes foram colocadas em semeadeiras de isopor (Figura 03) e após duas semanas transferidas para as caixas de auto-rega (Figura 04).



Figura 03 - Detalhe das semeadeiras de isopor

Cada caixa continha seis vasos presos por uma placa de isopor. Dentro dos vasos foi colocado, argila expandida, um cordão de algodão, para haver um suprimento contínuo de água. O vaso foi preenchido pelo substrato agrícola (PLANTMAX hortaliças), meio de cultura fornecido pela Eucatex com composição de nutrientes favorável (segundo o fornecedor) ao cultivo de solanáceas.



Figura 04 - Detalhe das caixas de auto-rega

As plantas foram expostas pelo período de 18 de novembro até 17 de dezembro de 2002 e então trazidas ao Centro Politécnico, Departamento de Botânica (Centro Politécnico UFPR), para as análises.

Análises do desenvolvimento da planta

Das cento e oitenta plantas foram selecionadas dezoito de cada ponto (108 no total) para as análises de desenvolvimento. Foram realizadas as seguintes medições:

Comprimento do caule – foi tomada a distância da base do caule até o ápice, ou seja a ponta da gema apical. Pelo caule ser escandescente, o comprimento foi tomado através de uma corda, colocada posteriormente sobre uma régua.

Área foliar – Foram selecionadas três folhas do penúltimo nó do ápice para a base de cada planta. As folhas foram colocadas sobre papel A4 (Fig 7) contendo dados informativos sobre o local e identificação do indivíduo assim como escala para auxílio nas medições morfométricas. As imagens foram obtidas de duas maneiras:

- Fotografia por meio de câmeras digitais onde as folhas foram fotografadas em baixa e alta definição. Baixa definição por câmera Sony Mágica em definição de 16X12 . Em alta definição por câmera Canon G2 em definição de 1800X1200. Após a digitalização as imagens foram submetidas a um programa de análise de imagens por satélite ArcView 3.2 (ESRI) onde foram retiradas a área foliar e a porcentagem de injúria por necrose devido ao ozônio.
- Mesa digitalizadora: As folhas eram fotocopiadas, tomando-se o cuidado de manter a fotocópia em escala que não alterasse as dimensões reais da folha, e colocadas em mesa digitalizadora para a obtenção da área foliar

Área de necrose foliar – o dano causado pelo ozônio (salpicos necróticos) foi mensurado de duas maneiras:

- Método de nota – método visual, as folhas foram observadas por um grupo de pessoas que forneceram dano foliar para folha sem dano, 1 para de 1 a 20% de dano, 2 para 21 a 40% de dano, 3 para 41 a 60% de dano, 4 de 61 a 80% e 5 de 81 a 100% de injúria foliar.
- Método digital – as imagens digitalizadas foram submetidas a uma classificação supervisionada, na qual são demarcadas amostras (pequenos polígonos) para cada alvo (necrose, folha, papel) e então os pixels contendo os espectros das amostras são classificados e levados para outro programa para o cálculo de área. O software utilizado para realizar a classificação supervisionada foi o Image Analyst (do pacote Microstation) e para realizar os cálculos foi utilizado o software ArcView 3.2 (ESRI).

Peso fresco foliar – imediatamente após a colheita, todas as folhas selecionadas para a área foliar foram submetidas à pesagem em balança de precisão Scientech SA210.

Peso seco foliar – todas as folhas selecionadas para o peso fresco foram secas em estufa a 60°C até peso constante e pesadas.

Área específica foliar – a partir dos dados obtidos com a área foliar e o peso seco foliar foi calculada a área específica foliar (ERF)

Massa específica foliar (Razão de área foliar) a partir dos dados obtidos com a área foliar e o peso seco foliar foi calculada a massa específica foliar (MEF).

Analises de Clorofilas.

Análise das clorofilas – Foram retirados 1g de folhas de cada planta, cortados em pequenos fragmentos e macerados em cadinho de porcelana com 10mL de acetona 80% adicionados gradualmente até a obtenção de um líquido uniforme. O líquido então foi transferido para tubos de vidro e centrifugados a 3500 rpm por 3 minutos. Após a centrifugação, o líquido resultante foi transferido para uma cubeta

de vidro e levado ao espectrofotômetro onde foram feitas as mensurações das clorofilas nos comprimentos de onda de 645 e 663nm (Hiscox, Israelstam,1979)

A interpretação dos dados do espectrofotômetro foi feita segundo o método de Arnon, que utiliza as seguintes formulas:

- Clorofila b

$$\text{Clor. b (g/L)} = 0.0229 \cdot A_{645} - 0.00468 \cdot A_{663}$$

- Clorofila a

$$\text{Clor. a (g/L)} = 0.0127 \cdot A_{663} - 0.00269 \cdot A_{645}$$

- Clorofila total

$$\text{Clorofila total (mg/L)} = 20.02 \cdot A_{645} + 8.02 \cdot A_{663}$$

Analises Morfoanatômicas e Químicas.

Microscopia eletrônica de Varredura – foram retiradas amostras da região mediana da folha, fixadas em FAA por 48 horas e armazenadas em álcool etílico 70%.

Ao se realizarem as análises, as amostras foram desidratadas em série etílica até álcool absoluto e submetidas ao ponto crítico com CO₂ em equipamento BALZERS CPD-010. Após montagem em suporte próprio, o material botânico foi metalizado com ouro em aparelho BALZERS SPUTTERING SCD-030.

As análises e registros de imagens foram efetuados em microscópio eletrônico de varredura GEOL JSM – 6360 LV As imagens digitais foram capturadas diretamente do microscópio no formato TIFF.

As amostras, para difração de raios X (uma de cada ponto), foram retiradas do álcool 70%, colocadas em suporte próprio e postas para secar. Após a secagem, foram colocadas diretamente no microscópio eletrônico de varredura com aparelho

de difração de raios X (EDS NORAN) em baixo vácuo para obtenção dos espectros de componentes químicos.

Foram analisados cinco pontos de cada amostra, quatro contendo material particulado e uma da superfície da folha.

Análises estatísticas

Foram realizados testes de variância (ANOVA) e teste t. As análises estatísticas foram feitas através do “software” JMP. A hipótese testada foi a de que maiores níveis de poluição prejudicam o desenvolvimento dos bioindicadores. Em todos os testes foi considerado como valor de significância $\alpha < 0,05$

3 RESULTADOS

3.1 Comprimento do caule

Foram medidos os caules de 107 plantas, pois houve uma perda no Ponto C2. O comprimento médio dos caules foi de 29,16cm, variando de 15 a 45 cm. Embora uma planta no Ponto C2 tenha morrido, provavelmente o vento quebrou o caule no início do experimento, foi nesse ponto que as plantas atingiram em média o maior comprimento, 33,94cm.

Desde esta análise foi encontrada uma diferença entre os dados obtidos neste experimento e os esperados. O ponto situado no Centro Politécnico (Ponto A1) deveria ser um ponto não poluído, pois vários trabalhos utilizaram este ponto como ponto livre de poluição do ar (BÜNDCHEN 2001; BUJOKAS 2001), entretanto em neste experimento as plantas aqui colocadas foram as mais comprometidas em vários dos fatores analisados. Sendo assim esse ponto será tratado como ponto poluído e o ponto sitiado na Imprensa da UFPR (Ponto A2) como ponto não polido, para este trabalho.

PONTO	COMPRIMENTO (cm)	MASSA (g)	MASSA SECA (g)	ÁREA FOLIAR (cm ²)	MEF (g/cm ²)	AEF (cm ² /g)	CLOROFILA A (mg/L)	CLOROFILA B (mg/L)	CLOROFILA TOTAL (mg/L)
A1	26,67b (1,62)	2,51b (0,13)	0,32b (0,015)	51,49b (3,20)	0,00699a (0,00034)	167,12b (24,44)	0,0155a (0,0018)	0,00977a (0,0012)	25,308a (2,5474)
A2	32,11a* (1,62)	2,64a (0,12734)	0,28b (0,014)	62,34b (3,20)	0,00453b (0,00034)	226,23b (24,44)	0,0182a (0,0018)	0,00971a (0,0012)	27,924a (2,5474)
B1	30,05a (1,62)	3,02a* (0,13)	0,27b (0,015)	79,45a* (3,26)	0,00340c (0,00035)	310,27a (24,90)	0,0182a (0,0018)	0,00967a (0,0012)	27,9556a (2,5474)
B2	28,89a (1,62)	2,65a (0,13)	0,30b (0,014)	62,83b (3,20)	0,00490b (0,00034)	257,51b (24,44)	0,0126a (0,0018)	0,00920a (0,0012)	21,817a (2,5474)
C1	23,56b (1,62)	2,48b (0,13)	0,19c (0,014)	67,75a* (3,26)	0,00308c (0,00035)	386,70a (24,90)	0,0176a* (0,0018)	0,01012a (0,0012)	27,739a (2,5474)
C2	33,94a* (1,67)	3,05a* (0,13)	0,38a* (0,014)	77,34a* (3,20)	0,00502b (0,00034)	206,92b (24,44)	0,020072 (0,0018)	0,00950a (0,0012)	29,566a (2,5474)

Tabela 1: ANOVA para Comprimento de caule (GL 5, SQ 1238,41, QM 247,68, F 5, 21, $P < 0,05$), Área foliar (GL 5, SQ 28934,13, QM 5786,83, F 10,4306, $P < 0,05$), Massa fresca (GL 5, SQ 16,53, QM 3,3, F 3,77, $P < 0,05$), Massa seca (GL 5, SQ 1,061, QM 0,2123, F 18,3096 $P < 0,05$), Área específica foliar, AEF (GL 5, SQ 0,00051606, QM 0,000103, F 16,2963, $P < 0,05$), Massa específica foliar, MEF (GL 5 SQ 1644780, QM 328956, F 10,2012, $P < 0,05$).

Das plantas analisadas para comprimento do caule os pontos A1 e C1 apresentaram plantas com comprimento significativamente abaixo da média (Tabela 1). O Ponto C1 apresentou as plantas com o caule menos desenvolvido entre todos os pontos, com valores significativamente menores até que o Ponto A1, também abaixo da média. Os pontos centrais não apresentaram diferenças significativas.

Ao analisar o comprimento do caule por região podemos verificar que nas regiões A e B houve diferenças de desenvolvimento entre os pontos, tendo na região A o caule das plantas no Ponto A1 se desenvolvido menos que no Ponto A2 (Tabela 2), assim como na região C, o caule das plantas do Ponto C1 se desenvolveu significativamente menos que as do Ponto C2.

Na região B as diferenças entre o comprimento dos caules dos pontos B1 e B2 não foram significativas, embora os caules do Ponto B2 tenham sido menores.

Para analisar a região mais poluída da cidade foi realizado o teste de ANOVA por região, entretanto, como os pontos não foram escolhidos aleatoriamente, os valores dos pontos não comprometidos por poluição podem anular as alterações causadas pela poluição “alterando” os valores para a média. Sendo assim os valores colocados no teste não apresentam variações significativas.

Com a intenção de verificar a possibilidade de retirar uma região mais comprometida e outra menos comprometida da cidade, foram separados , para possibilitar a efetuação dos testes estatísticos, os pontos tidos como poluídos (A1, B2, C1) e não poluídos (A2, B1, C2).

Sendo assim ao testar somente os pontos poluídos da cidade, um de cada região para comprimento do caule podemos observar que apesar do Ponto C1 apresentar valores menores que os dos outro pontos, ele não pode ser considerado como o ponto onde o desenvolvimento do caule foi mais prejudicado (ep 1,53, n 54, GL 53, SQ 258,37, QM 129,18, F 3,07, P 0,0548).

Analisando os pontos tidos como não poluídos não houve diferença significativa.

3.2 Massa fresca foliar

Foram retiradas três folhas de cada planta para as análises de massa foliar. Destas tiveram 320 medições validas, ou seja, uma planta no Ponto A1 não se desenvolveu ao ponto de ter folhas validas para medição e duas plantas no Ponto B1 não apresentavam três folhas passivas de serem medidas, faltando uma folha em cada planta.

A massa fresca foliar variou entre 7,32 e 0,86g. Embora a variação pareça grande, 75% das folhas analisadas tiveram valores próximos da média e poucas folhas tiveram a massa fora desta faixa, o que se pode observar pela pequena variação dos valores médios ..

As diferenças entre os pontos analisados em conjunto foram estatisticamente significativas, sendo que as folhas apresentaram massa significativamente abaixo da média nos pontos A1 e C1 (Tabela 1), as plantas tiveram uma maior massa nos pontos B1 e C2.

Observando assim as regiões isoladamente podemos ver que na Região B o Ponto B2 apresenta valores de massa foliar significativamente menores que o Ponto B1 (Tabela 3) assim como o Ponto C1 em relação ao C2.

Os valores analisados para comprimento do caule e massa foliar variaram de maneira semelhante, no que diz respeito a pontos onde a planta teve um melhor ou pior desenvolvimento.

Analisando os pontos por região podemos ver que na Região A não houve variação significativa entre os valores de massa foliar (Tabela 3). As plantas da Região A apresentaram valores médios menores que os das outras regiões, mas quando testados os valores em um teste de ANOVA, por região essa variação não se mostra significativa.

Testando somente os pontos tidos como poluídos não ocorrem diferenças estatísticas significativas, entretanto ao analisar os pontos não poluídos vemos que o a massa das plantas do Ponto C2 foi significativamente maior que dos demais pontos

3.3 Massa seca foliar

Foram retiradas para a massa seca três folhas de cada planta. Destas tiveram 320 medições válidas, ou seja, uma planta não se desenvolveu a ponto de ter folhas validas para medição (Ponto A1), enquanto que no Ponto B1, duas plantas não apresentavam três folhas passivas de serem medidas, faltando uma folha em cada planta.

A massa seca foliar variou entre 0,04 a 0,82g. As plantas apresentaram em média 0,29g. Somente o Ponto C1 apresentou valores significativamente abaixo da média (Tabela 1), sendo que o Ponto C2, na mesma região apresentou os maiores valores para massa seca foliar.

Na Região A pode-se observar que para massa seca foliar as plantas analisadas tiveram o comportamento inverso das análises anteriores, tendo o Ponto A2 apresentado folhas significativamente mais leves que o Ponto A1 (Tabela 4), o que irá alterar também os dados de área específica foliar (Tabela 6).

Embora o Ponto A2 tenha tido valores menores que os do Ponto A1 esses valores não estão abaixo da média (Tabela 1), não sendo assim considerado um ponto poluído.

Na Região B, comparando-se os pontos isoladamente, não foram encontradas diferenças significativas entre as variações dos dois pontos (Tabela 4). Entretanto essa diferença foi grande o bastante para alterar significativamente os valores da área específica foliar, onde por causa dos valores mais baixos as plantas do Ponto B1 possuem uma AEF significativamente menor que o Ponto B2 (Tabela 1).

Na Região C o Ponto C1 teve suas folhas com menos massa seca que as do Ponto C2 (Tabela 4).

Embora os maiores e menores valores médios para massa seca estejam nas regiões A e B respectivamente, essas variações não foram significativas. O comportamento da massa seca foliar na Região C foi de contrastes ao comparar os dados somente dos pontos tidos como poluídos. Vemos que no Ponto C1 as folhas tiveram os menores valores para massa seca em relação aos pontos não poluídos .

Também na Região C se encontra o ponto com maiores valores para massa seca foliar. O Ponto C2, quando comparado somente com os pontos tidos como não poluídos, apresentou a maior média .

3.4 Área Foliar

Foram analisadas as áreas de 320 folhas, tendo variado entre 5 e 183cm².

As variações de área foliar e massa fresca têm um comportamento muito semelhante, o que difere um pouco do comportamento no peso seco. Foram realizados testes estatísticos de correlação para verificar se existia uma variação do peso seco diferente da esperada. Embora a relação entre massa fresca e área foliar seja grande (C 0,91, n 320 $P < 0,05$) a relação entre massa seca também apresentam níveis de correlação altos e estaticamente significativos (C 0,56, n 320, $P < 0,05$).

Na Região A, os dois pontos apresentaram valores e área foliar significativamente abaixo a média (Tabela 1). As condições de insolação dos pontos eram semelhantes, todas as plantas foram colocadas em região ensolarada.

A variação no tamanho das folhas foi grande o que talvez não permitiu um distanciamento maior entre os pontos quando comparados com as plantas se desenvolveram melhor. Observando os pontos da Região A separadamente, podemos ver que as diferenças entre os dois pontos foram significativas e dentro do esperado, ou seja as plantas do Ponto A1 tiveram valores de área foliar menores que os das plantas do Ponto A2 (Tabela 1 e 5)

Analisando o comportamento por região podemos verificar que a região A apresentou valores médios significativamente menores em seus dois pontos quando comparados às outras regiões.

Na Região B as plantas do Ponto B2 apresentaram significativamente menos área foliar que as plantas do Ponto B1 (Tabela 5).

Na Região C as plantas não apresentaram variações de área foliar significativas entre os dois pontos, entretanto nesta região foi onde ocorreram mais problemas com as plantas sendo assim as maiores variações entre a área foliar.

Apesar das plantas do Ponto C1 não terem apresentado valores de área foliar abaixo da média elas apresentaram valores de massa seca e área específica foliar marcadamente menores o que é sinal de uma menor espessura do limbo e a maior área foliar pode ser uma compensação à ação da poluição.

Testando a correlação entre a área foliar e a porcentagem de necrose encontramos uma baixa porém estatisticamente significativa correlação positiva ($C=0,16$, $n=319$, $P<0,05$), ou seja quanto maior e mais velha a folha mais injuriada ela será.

3.5 Massa Foliar Específica

Foram analisados para Massa Foliar específica(MFE)a razão entre a massa seca e a área foliar de 320 folhas tendo como valor médio $0,0047\text{cm.g}$ e variando entre $0,00035$ e $0,047\text{ g/cm}^2$.

Os pontos B1 e C1 apresentaram valores significativamente abaixo da média (Tabela 1). O Ponto A1, tido como ponto poluído apresentou os maiores valores de MFE. Os valores de massa seca aumentados no Ponto A1 e diminuídos no Ponto B1 são os responsáveis por essa inversão na posição desses dois pontos em relação às outras análises.

Analisando somente os pontos tidos como poluídos de cada região podemos observar um grande contraste entre os pontos. O Ponto B1 apresentou valores médios significativamente menores que os outros pontos (Tabela 1) o que seria um resultado esperado. Entretanto o Ponto A1 apresentou valores notadamente maiores o que distingue pontualmente cada região.

Embora ao comparar os valores das regiões tidas como não poluídas encontremos o Ponto C2 com valores significativamente maiores suas médias são menores que as do Ponto A1.

A Região A apresentou diferenças significativas entre os dois pontos quando testados isoladamente. O Ponto A2 apresentou AEF menor que o Ponto A1 (Tabela 6).

Na Região B, o Ponto B1 apresentou MFE menor que o Ponto B2 e na Região C o Ponto C1 apresentou MFE menor.

3.6 Área Foliar Específica

A área específica ou razão de área foliar indica a área ocupada por um grama de folha seca.

Foi analisada a razão entre a área e a massa seca de 320 folhas, tendo como valores médios $259\text{cm}^2/\text{g}$ e variando entre 21,5 e $2819,8\text{ cm}^2/\text{g}$. As plantas dos pontos B1 e C1 apresentaram uma AFE maior. Sendo assim um espalhamento maior de sua massa, que se apresentou mais concentrado nos pontos A1, A2 e C2.

Analisando os pontos tidos como poluídos de cada região, podemos ver que na Região A o Ponto A1 apresenta os menores valores de AFE e os Pontos B2 e C2 os maiores (Tabela 7).

Entre os pontos tidos como não poluídos temos os pontos C2 e A2 com valores menores e o Ponto B1 com valores maiores de MEF.

A Região A mostrou diferenças estatísticas entre os pontos tendo o Ponto A1 apresentado valores menores que o Ponto A2 (Tabela 7).

A Região B não apresentou diferenças significativas entre seus pontos e na Região C, o Ponto C1 apresentou valores maiores que o Ponto C2 (Tabela 1).

3.7 Clorofilas

Foram feitas análises de Clorofila total, a e b. as análises de clorofila foram testadas em conjunto, entre região e pontos.

Para a clorofila total foram testadas 72 amostras com um valor médio de 26,72 mg/L, variando entre 6,46 e 46,99 mg/L. O Ponto B2 apresentou valores significativamente menores para clorofila A. Os outros pontos apresentaram valores semelhantes e menores.

^a Foram analisadas 72 amostras para Clorofila a, com valor médio de 0,017 mg/L e variando entre 0,004 e 0,035 mg/L.

Os teores de clorofila b foram entre todos do testes efetuados os que apresentaram valores mais uniformes, não apresentando diferenças significativas quanto testados

em conjunto. Também não apresentaram diferenças quando comparados como pontos poluídos e não poluídos ou quando comparados entre regiões.

REGIÃO	PONTOS	CLOROFILA A (mg/L)	CLOROFILA B (mg/L)	CLOROFILA TOTAL (mg/L)
A	1	0,015542 (0,00176)	0,009773 (0,00112)	25,3083 (2,5474)
	2	0,018223 (0,00176)	0,009709 (0,00112)	27,9245 (2,5474)
B	3	0,018290 (0,00176)	0,009673 (0,00112)	27,9558 (2,5474)
	4	0,012620 (0,00176)	0,009203 (0,00112)	21,8170 (2,5474)
C	5	0,017628 (0,00176)	0,010118 (0,00112)	27,7386 (2,5474)
	6	0,020072 (0,00176)	0,009502 (0,00112)	29,5665 (2,5474)

Tabela 8: ANOVA para clorofila a, b e total. Clorofila a (GL 5, SQ 0.00049, QM 0.00009, F 1.01, $P>0.05$), clorofila b (GL 5, SQ 0.00001176, QM 0.000002, F 0.13, $P>0.05$), clorofila total (GL 5, SQ 542.47, QM 108.5, F 1.03, $P>0.05$).

3.8 Área de necrose foliar

A área de necrose foliar foi verificada seguindo duas metodologias. A metodologia tradicional, que consiste em nota dada visualmente por observadores, embora esta metodologia tenha maiores valores de correlação estatística quando comparada a outras metodologias (CETESB, 2001), ainda é uma metodologia subjetiva o que dificulta a utilização do bioindicador por agências públicas no controle da poluição e punição de fontes poluidoras.

Com a intenção de retirar o fator humano da metodologia tradicional, foi utilizado um processo envolvendo fotografia digital e programas de análise de imagens de satélite. A área de necrose analisada pelo computador seria comparada a nota dada pelos observadores para verificar possíveis desvios feitos pela análise eletrônica.

Em ambas as análises a maioria das folhas teve nenhum ou pouco dano, sendo os níveis de poluição por ozônio em todos os pontos, considerado bom, ou seja, segundo a relação entre a área de injúria foliar e níveis de ozônio (por fumigação) apresentados por SAITANIS, KARADINOS, 2001, em todos os pontos

75% ou mais das plantas apresentaram injúria foliar correspondente a níveis de ozônio abaixo de 80 µg/L.

Os pontos que apresentaram um maior número de folhas danificadas acima dos níveis de 80 µg/L, foram os pontos A1, B2 e C2.

O Ponto C2 foi um dos pontos onde a planta melhor se desenvolveu entretanto o número de folhas sem injúria ou com injúria inferior a 20% da área foliar encontrados neste ponto foi o inferior entre todos os pontos estudados. Entretanto uma comparação entre os pontos através de um teste de contingência revelou que não houve diferenças significativas entre os pontos, nas notas de necrose (Tabela 9).

N de ponto Esperado Qui ² da célula	Nota 0	Nota 1	Nota 2	Nota 3	Nota 4	Total linha
Ponto A1	15 22,0063 2,2306	29 24,3762 0,8771	8 6,09404 0,5961	1 1,18495 0,0289	1 0,33856 1,2923	54
Ponto A2	18 22,0063 0,7293	31 24,3762 1,7999	5 6,09404 0,1964	0 1,18495 1,1850	0 0,33856 0,3386	54
Ponto B1	25 21,1912 0,6846	22 23,4734 0,0925	4 5,86834 0,5948	1 1,14107 0,0174	0 0,32602 0,3260	52
Ponto B2	31 22,0063 3,6756	14 24,3762 4,4168	8 6,09404 0,5961	1 1,18495 0,0289	0 0,33856 0,3386	54
Ponto C1	26 21,1912 1,0912	20 23,4734 0,5140	4 5,86834 0,5948	2 1,14107 0,6466	0 0,32602 0,3260	52
Ponto C2	15 21,5987 2,0160	28 23,9248 0,6942	7 5,98119 0,1735	2 1,16301 0,6024	1 0,33229 1,3417	53
Numero de Pontos	130	144	36	7	2	319

Tabela 9: Tabela de contingência para área de necrose foliar, sendo n do ponto, o número de folhas com a nota no ponto (n 319, R² 0,043, P 28,05, P > 0,05)

Os pontos 1 e 6 apresentaram algumas folhas com níveis de injúria maior que 40% o que poderia, se em grande número significar níveis insatisfatórios de

ozônio,segundo os limites legais.. Os pontos centrais apresentaram o maior numero de folhas não danificadas

A análise realizada pelo programa de computador demonstrou diferenças sendo que o programa tem a tendência de aumentar a área de injúria devido a semelhança entre as cores da parte necrosada e de porções sombreadas da foto. Isso faz com que o programa interprete como comprometidas áreas não necrosadas, aumentando a porcentagem de área necrosada para a análise (parte do limbo indicada pela seta azul figuras 5 e 6).

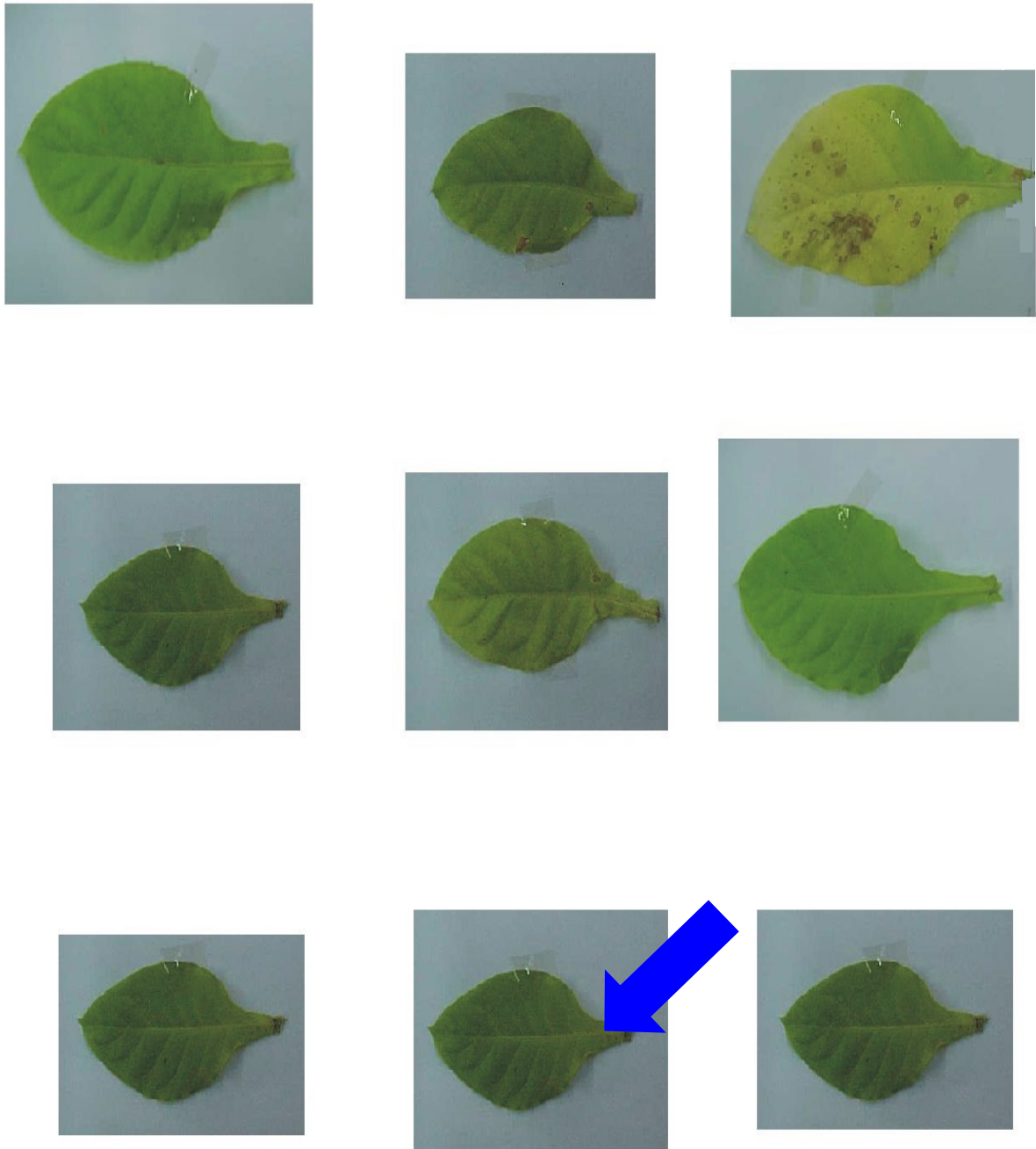


Figura 5: Mosaico formado por fotos digitais, bloco do mesmo ponto.

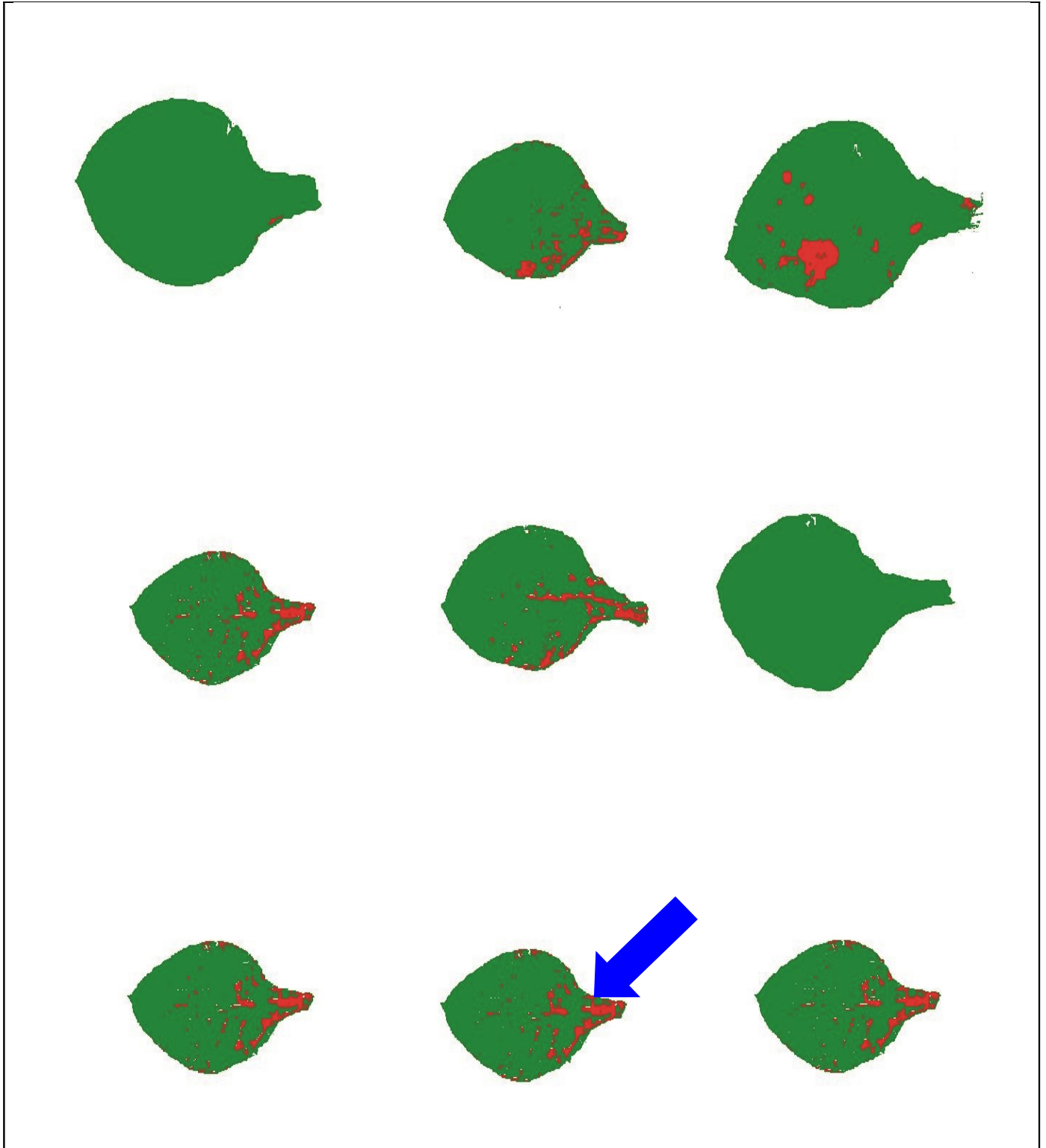


Figura 6: Interpretação da imagem da figura 5 pelo Image Analyst. Flecha azul mostra áreas adicionais não necrosadas mal interpretadas pelo programa.

O programa tendeu também a subestimar a área foliar. Comparando com as medições realizadas pela mesa digitalizador, os dados captados pelo computador através das fotos digitais subestimaram os valores de área foliar.

Testando as variações nas medições do Ponto B1 vemos que as diferenças para área foliar não foram significativas (media computador 77, 73, média observador 79, 45 média 78, 23, erro 1,54, n 51, t 1,27 GL 49, $P < 0,05$).

Vários programas foram testados tendo o Image analyst atingido os valores mais próximos dos valores da análise visual. O programa permite a demarcação de áreas de clorose que poderiam ser confundidas com áreas necrosadas.

A gama de cores obtida pela foto digital, na definição utilizada com as folhas mais frescas, não permite um contraste correto entre as áreas de necrose e clorose, tendo a tendência de aumentar as áreas necrosadas

Foram retiradas fotos digitais em alta definição, mas a diminuição da memória da máquina fotográfica torna mais moroso o trabalho acarretando um amarelamento das folhas o que mesmo com um espectro maior para a análise do programa houve confusão com as áreas amareladas (Figura 7).

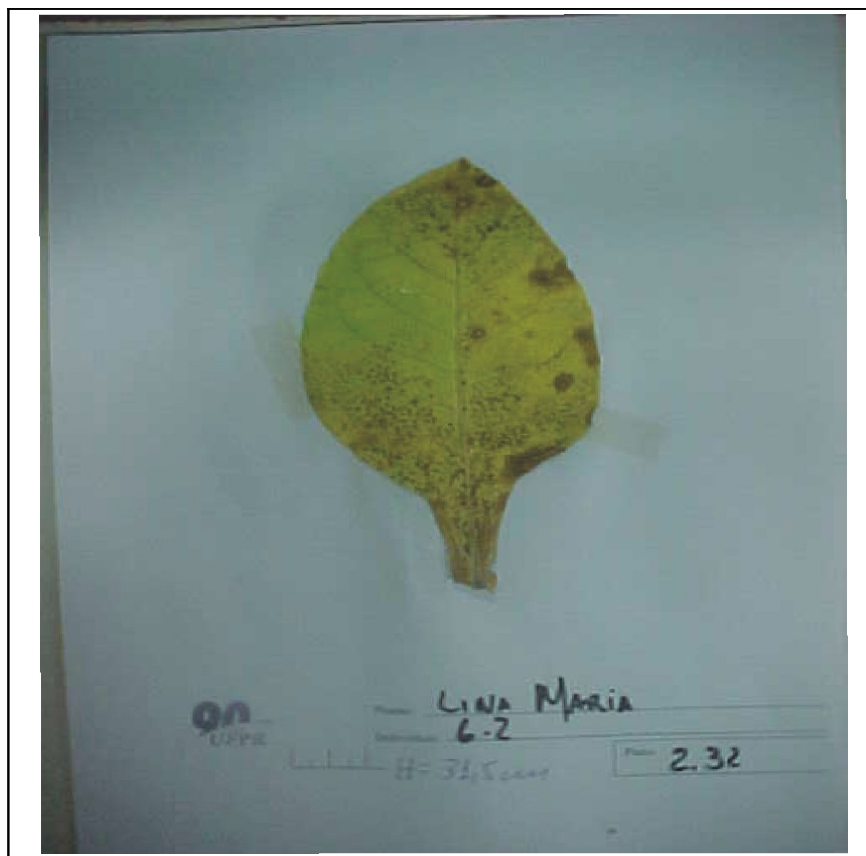


Fig 7: Aspecto das folhas após quatro dias da coleta.

Foram também separadas fotos para escanerização em alta definição, mas a alta definição torna o processo muito moroso, levando em média 25 minutos para a obtenção de cada imagem o que causou um grande amarelamento das folhas tornando impossível a análise eletrônica das folhas escanerizadas.

3.9 Microscopia Eletrônica e Análise Microanálise química.

As análises em microscopia eletrônica de varredura visaram encontrar danos a integridade das estruturas anatômicas foliares, como tricomas tectores desidratados, danos a integridade cuticular, entupimento do poro estomatal por material particulado, assim como o aspectos dos pontos necróticos.

Todos os pontos apresentaram folhas com áreas não comprometidas onde as células estão túrgidas (células epidérmicas, células guarda e tricomas) assim como a cutícula se apresenta íntegra e o poro estomático desobstruído, tanto na face adaxial (Fig 8) como na face abaxial (Fig 9).

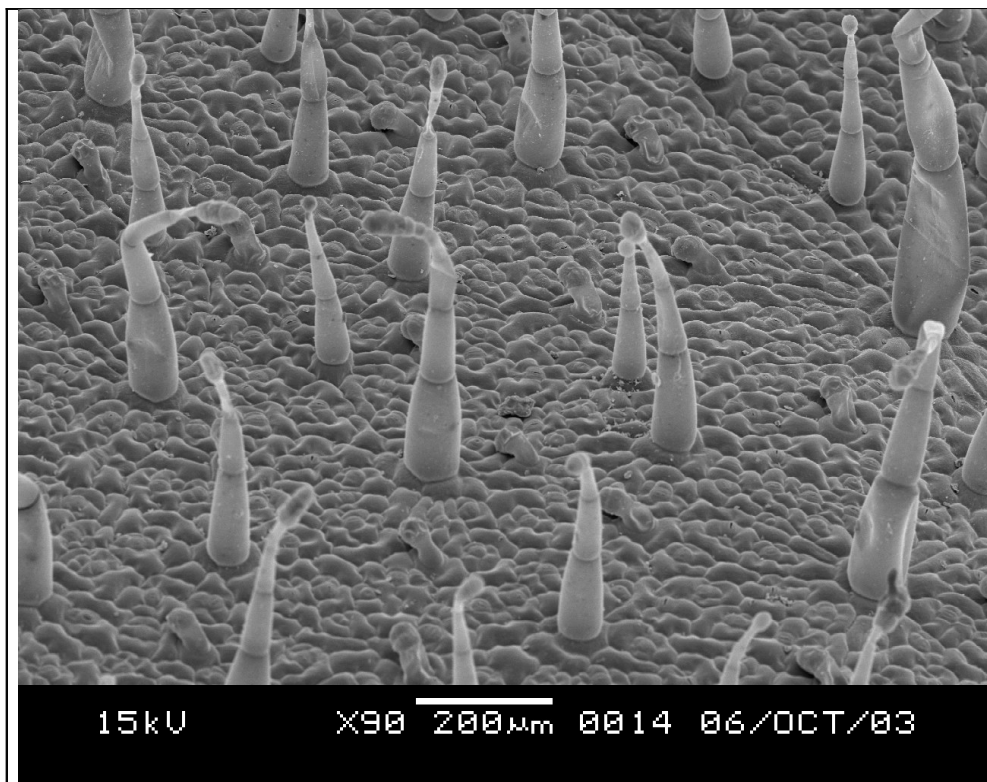
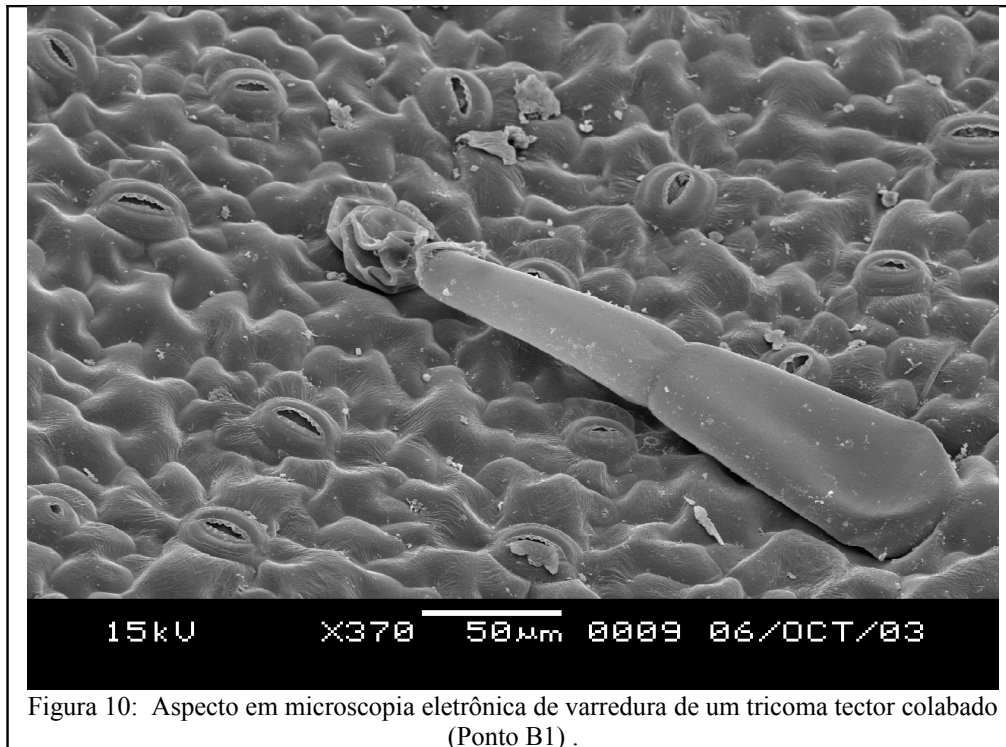


Figura 8: Aspecto em microscopia eletrônica de varredura da face adaxial da folha de *Nicotiana tabacum* sem lesão e com as células integras (Ponto C2).



Figura 9: Aspecto em microscopia eletrônica de varredura da face abaxial da folha de *Nicotiana tabacum* sem lesão e com as células integras (Ponto B2).

Como lesões de estruturas foliares causadas pelo material particulado podemos ter a desidratação dos tricomas. Os tricomas tectores podem tanto se apresentar colabados (Figura 10) com as células ao redor integras e túrgidas ou necrosados (Figura 13) dentro de áreas necróticas. A oclusão do poro estomático por material particulado (Figura 11) e lesões na cutícula causadas por material particulado (Figura 12).



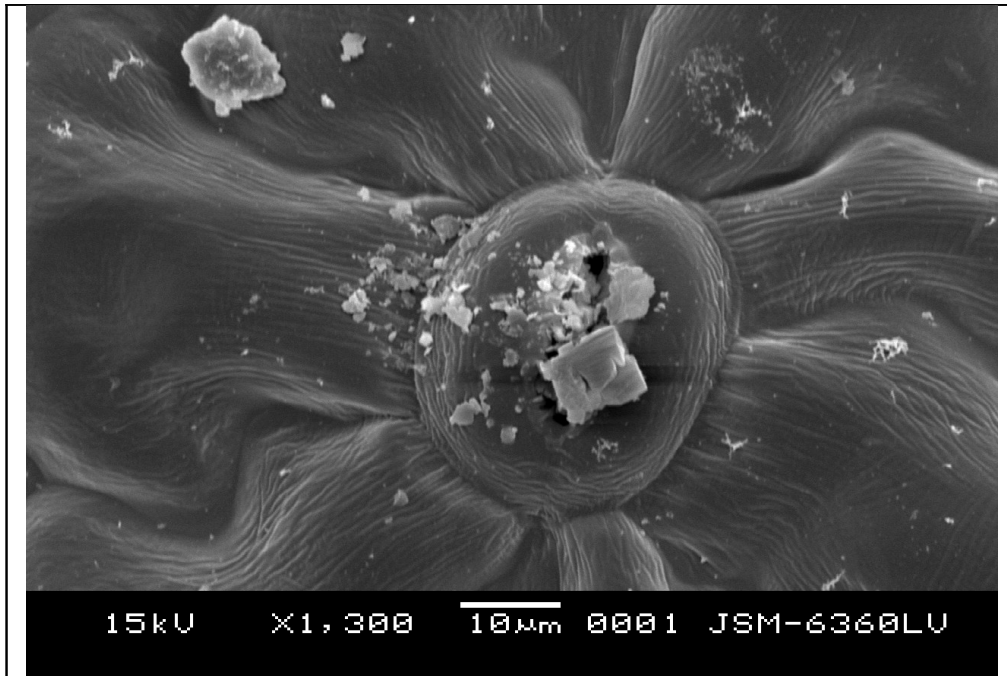


Figura. 11: Aspecto do estômato com poro obstruído por material particulado (Ponto C1) .

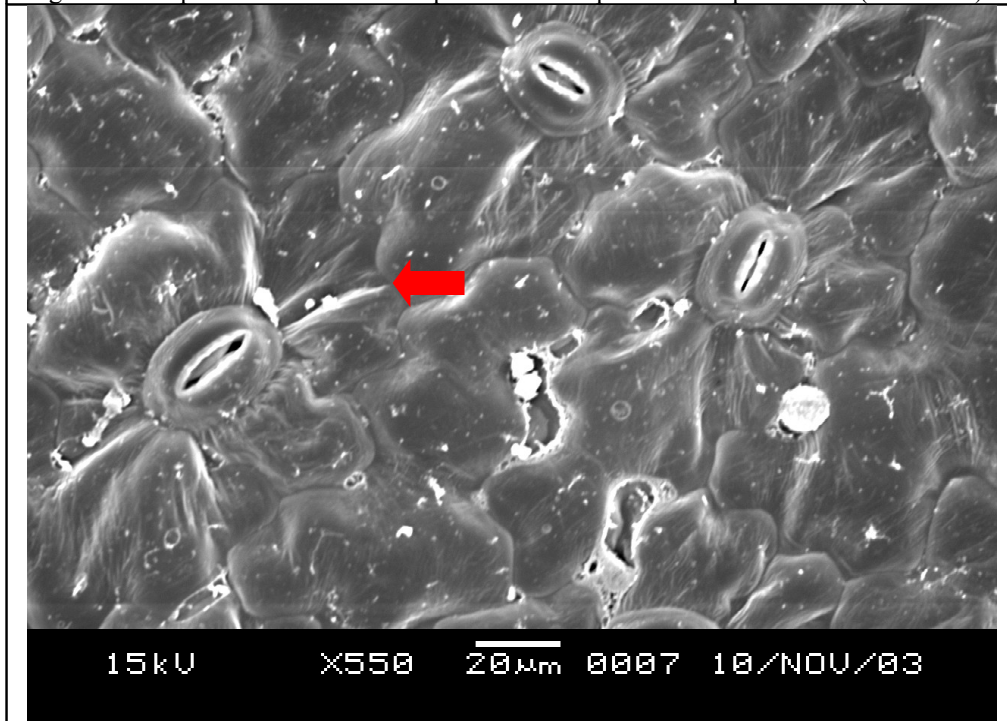
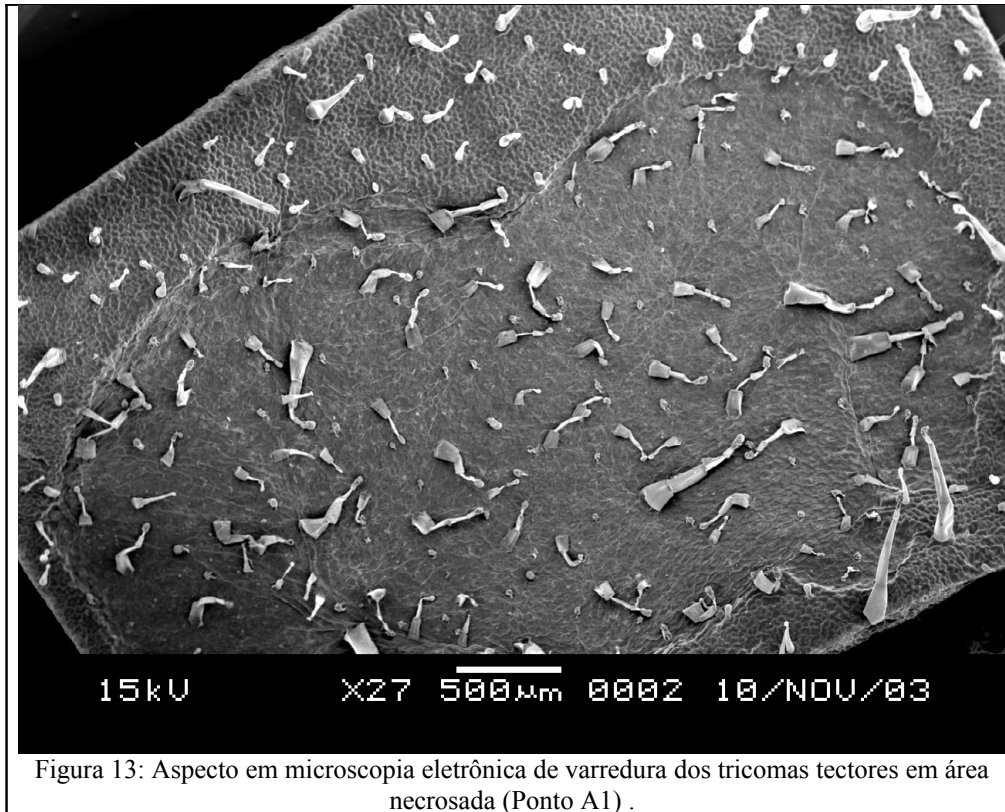


Figura 12: Aspecto em microscopia eletrônica de varredura das lesões cuticulares causadas por material particulado (seta vermelha) (Ponto B2) .



Nas áreas com lesões necróticas causadas pelo ozônio é possível observar uma total desorganização celular. Os tricomas tectores e glandulares perdem sua turgescência assim como as células guarda dos estômatos (Figuras 14 e 15), a maioria dos estômatos em áreas necrosadas se encontram com o poro fechado (Fig 15).

Nas regiões com a lesão pelo ozônio ocorre também uma desorganização tecidual não havendo mais a possibilidade de distinção dos parênquimas clorofiliano (palicádico e lacunoso) (Figuras 16 e 17)

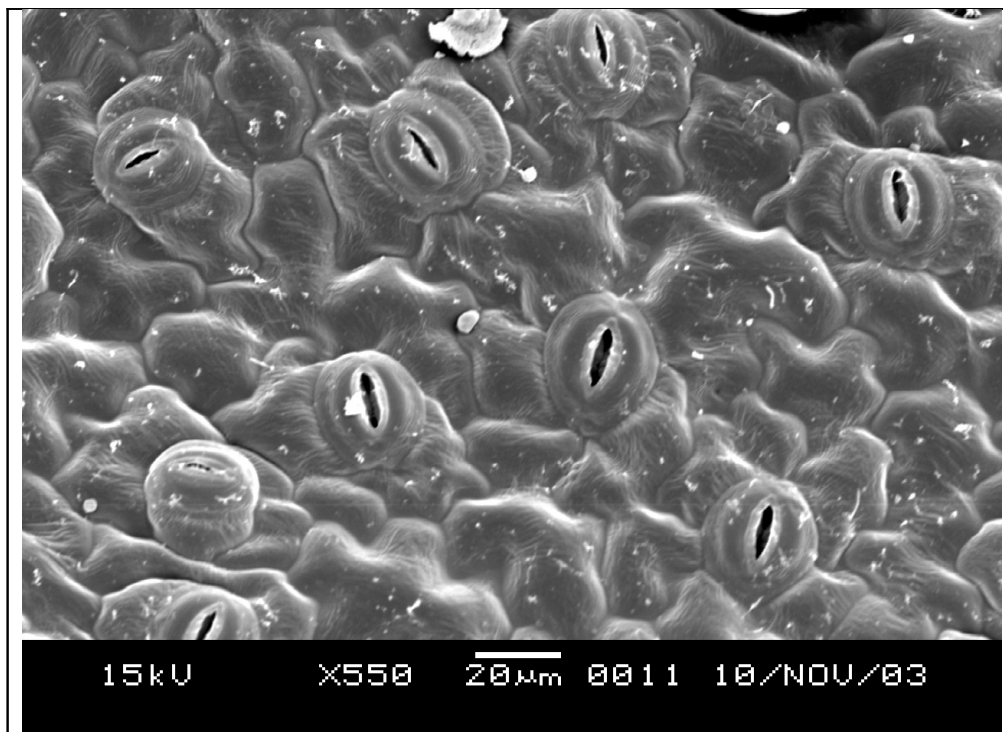


Figura 14: Aspecto dos estômatos em microscopia eletrônica de varredura com células íntegras (Ponto B2).



Figura 15: Aspecto em microscopia eletrônica de varredura de um estômato na área com necrose (Ponto A2).

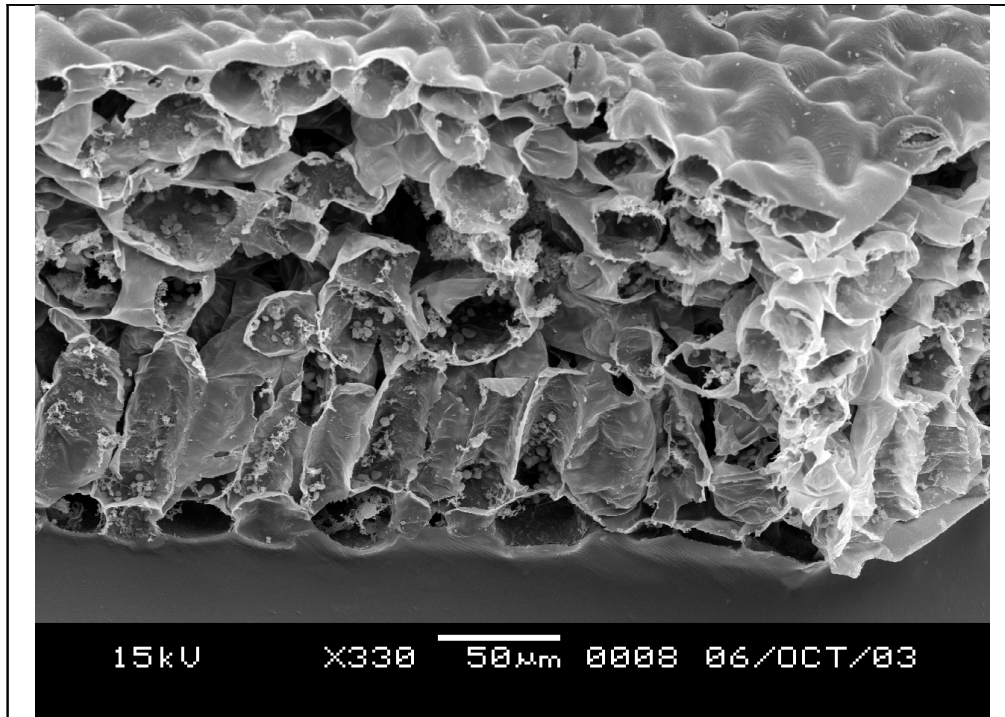


Figura 16: Aspecto de em microscopia eletrônica de varredura de um corte transversal da folha de *Nicotiana tabacum* com tecidos íntegros (Ponto A2) .

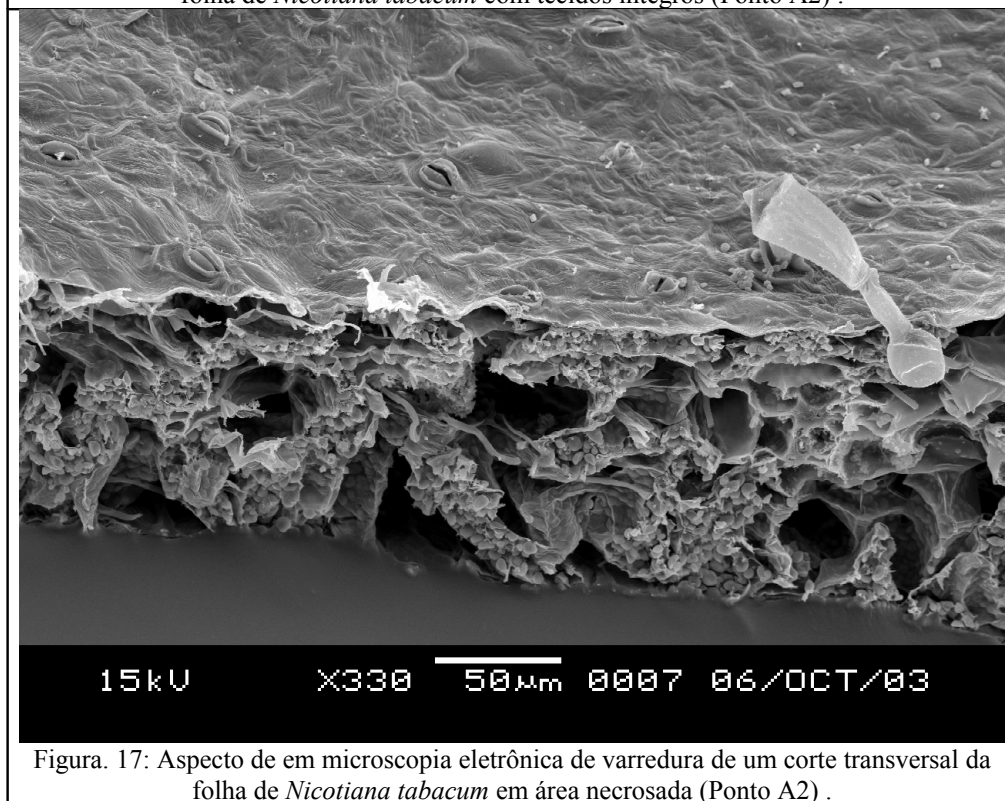
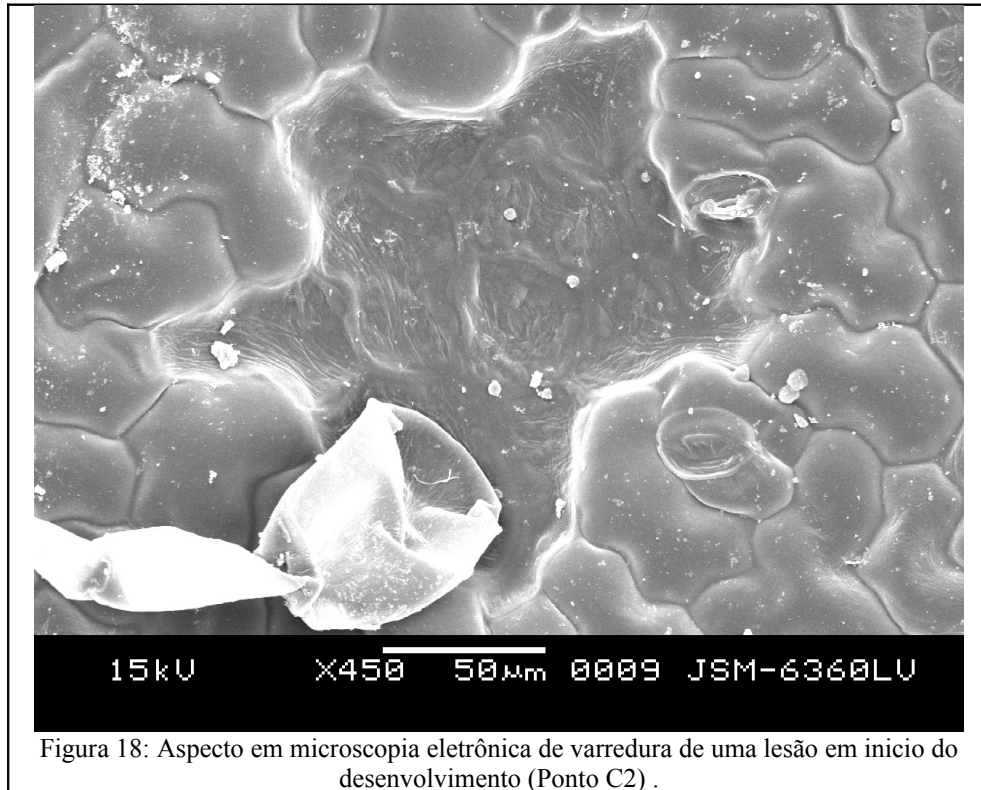


Figura. 17: Aspecto de em microscopia eletrônica de varredura de um corte transversal da folha de *Nicotiana tabacum* em área necrosada (Ponto A2) .

Na área onde ocorre a lesão inicial, parece haver sempre a presença de um tricoma tector. Foram pesquisados o início da formação das lesões em várias folhas

e não foram encontrados locais onde as lesões iniciavam ao redor dos estômatos, mas, sempre havia um tricoma tector na área de lesão (Figuras 18 e 19). A área lesionada pode atingir desde alguns milímetros (Figura 13) até aproximadamente um centímetro de diâmetro.



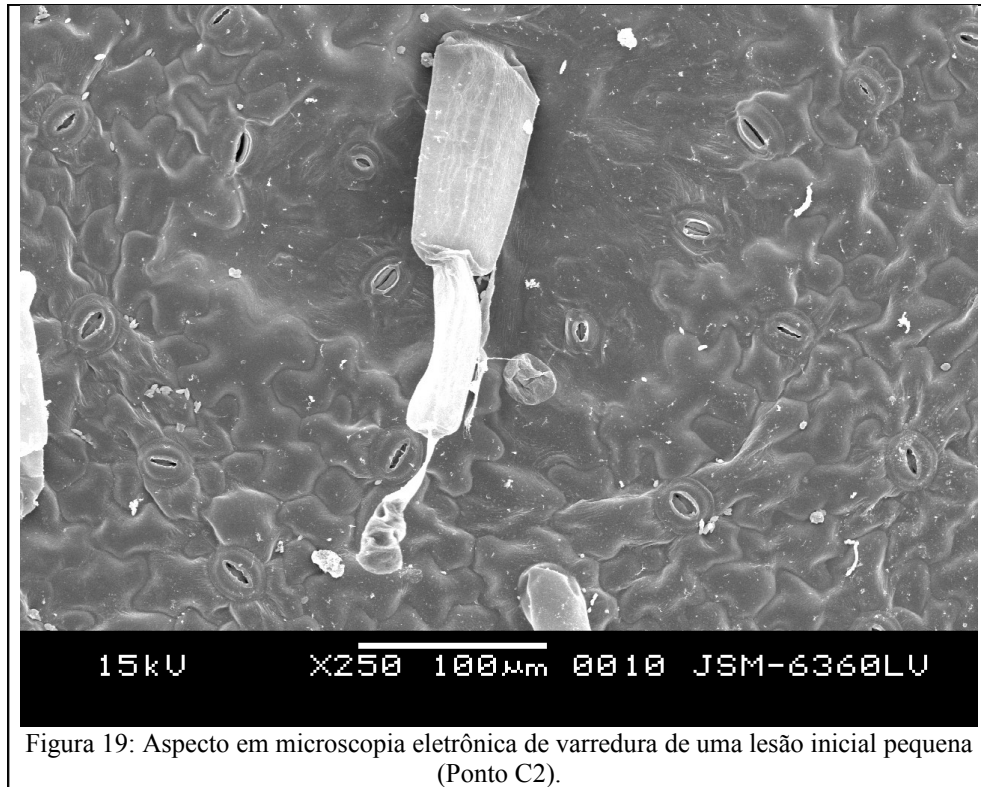


Figura 19: Aspecto em microscopia eletrônica de varredura de uma lesão inicial pequena (Ponto C2).

Foram encontradas em algumas folhas estômatos com deformações (Teratológicos) (Figuras 20 e 21). Esses estômatos possuem uma pequena abertura, sem a borda com cutícula e uma célula que se destaca das demais células epidérmicas.

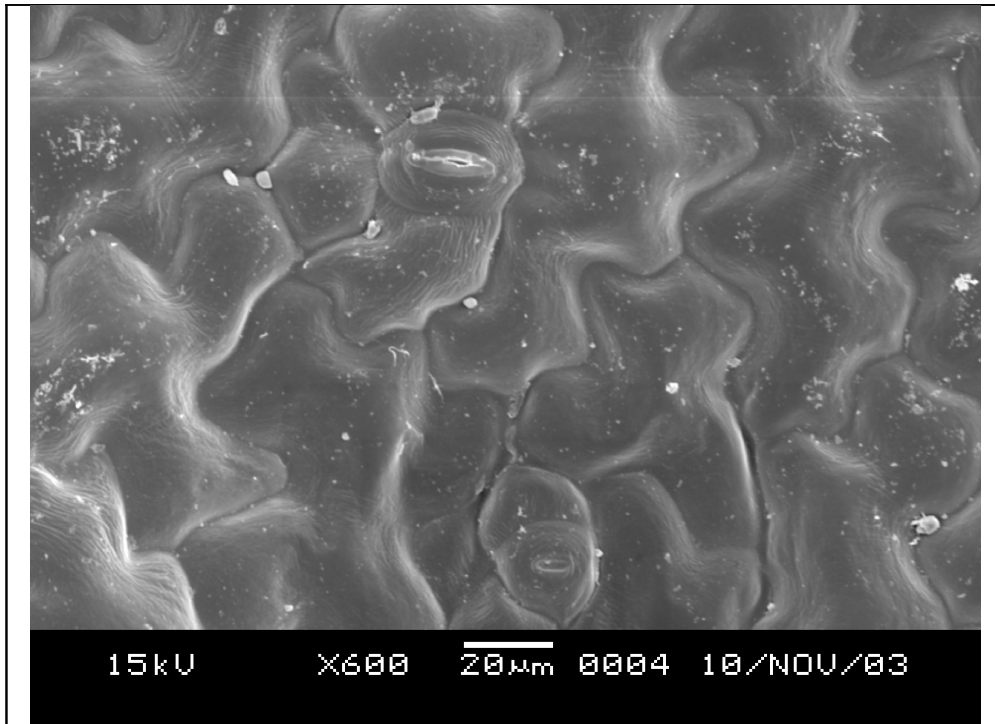


Figura 20: Aspecto em microscopia eletrônica de varredura da área ao redor da célula com aspecto de estômato que está na posição central inferior da foto (Ponto B1) .

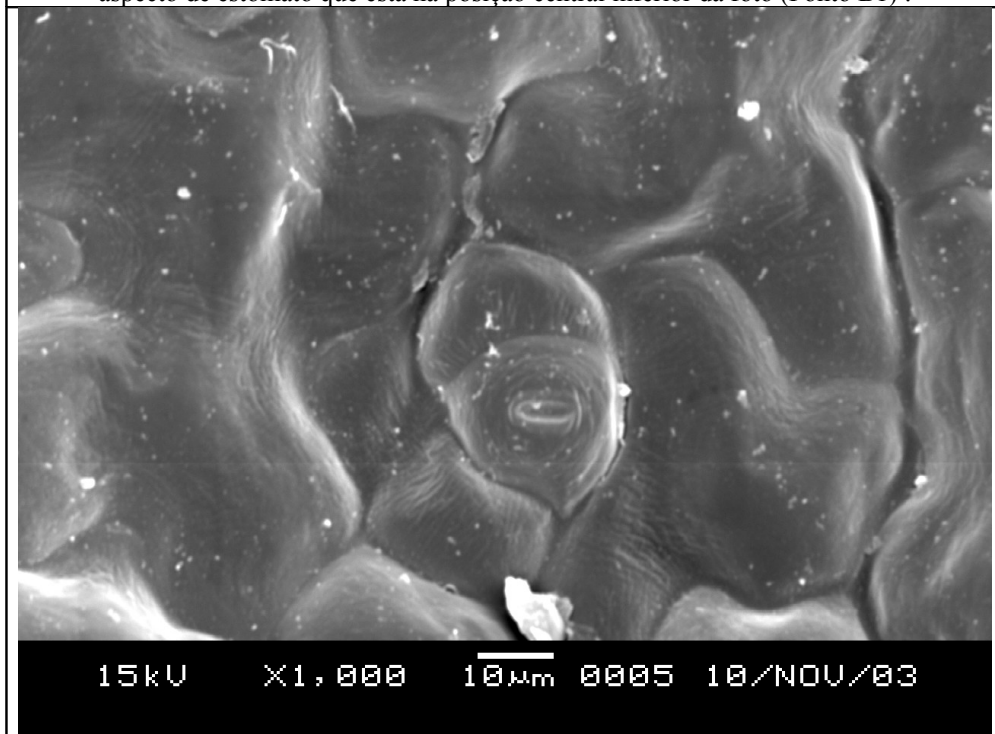


Figura 21: Aspecto em microscopia eletrônica de varredura de um detalhe da célula (Ponto B1).

As áreas necróticas podem, em folhas onde a necrose ocorre a mais tempo, sofrer infecções oportunistas, como de fungos (Fig 22).



Figura 22: detalhe de tricoma tector infectado por fungos (Ponto A1).

Para as análises em difração de raios X o material era desidratado e colocado diretamente no microscópio. A superfície do material não era coberta por ouro ou carbono, sendo assim nada interferiria na análise dos elementos pelo raio X.

No Ponto A1 foram bombardeadas quatro partículas e um ponto sem partículas da superfície foliar (Fig 23), entre as partículas foi encontradas partículas com cálcio e enxofre, grande porcentagem de enxofre em todas as partículas desse ponto pode indicar a presença de particulado sulfuroso se depositando na superfície foliar no entorno do Ponto A1.

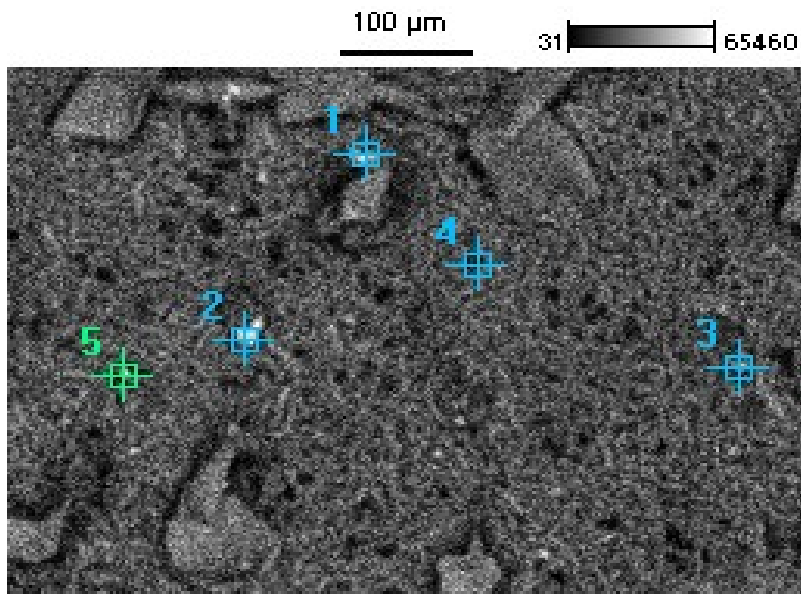


Figura 23: Aspecto em microscopia eletrônica de varredura de área analisada pelo EDS Ponto A1(Voltagem: 15.00V, magnificação 200X)

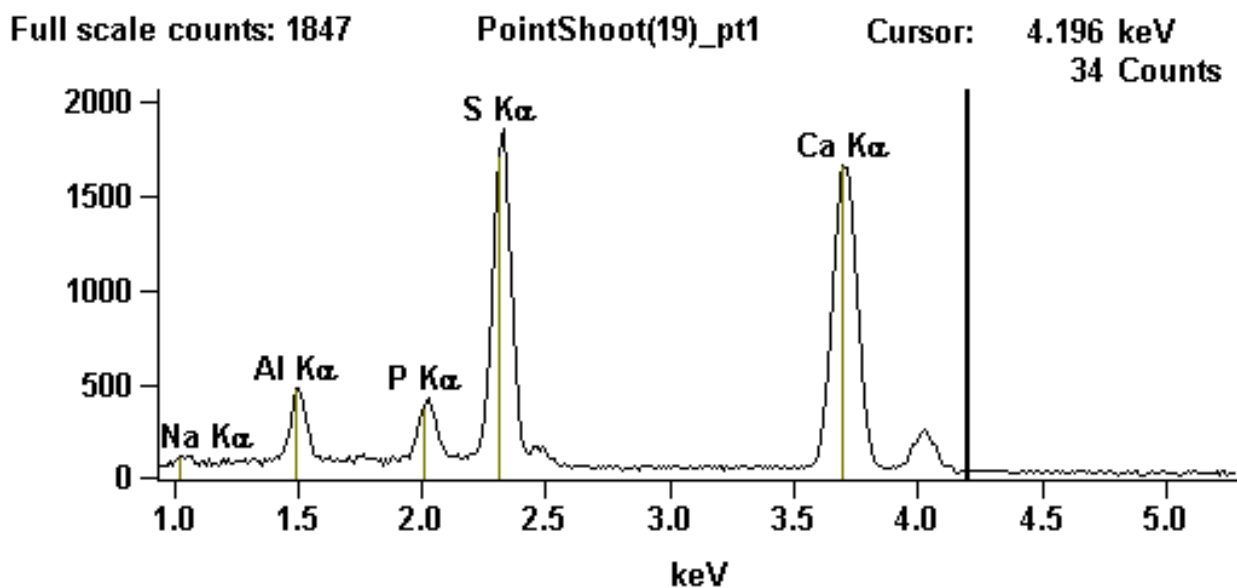


Figura 24: Espectro de partícula do Ponto A1 por difração de raios X.

No Ponto A2 foi encontrada, entre os pontos analisados (Fig 25) uma menor quantidade de particulado mineral sobre a superfície foliar, com baixas quantidades de enxofre (próximas ao ruído), cálcio e zinco próximo ao nível de ruído (Fig 26).

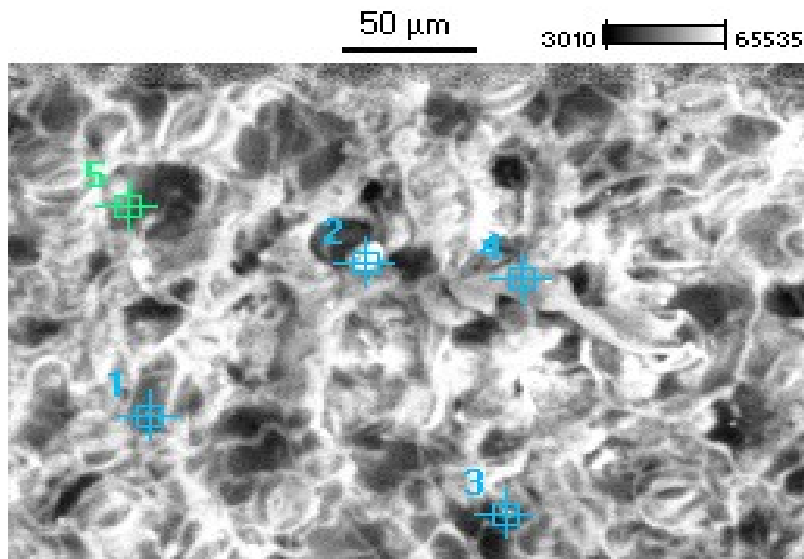


Figura 25: Aspecto em microscopia eletrônica de varredura de área analisada pelo EDS Ponto A2 (Voltagem: 15.00V, magnificação 400X)

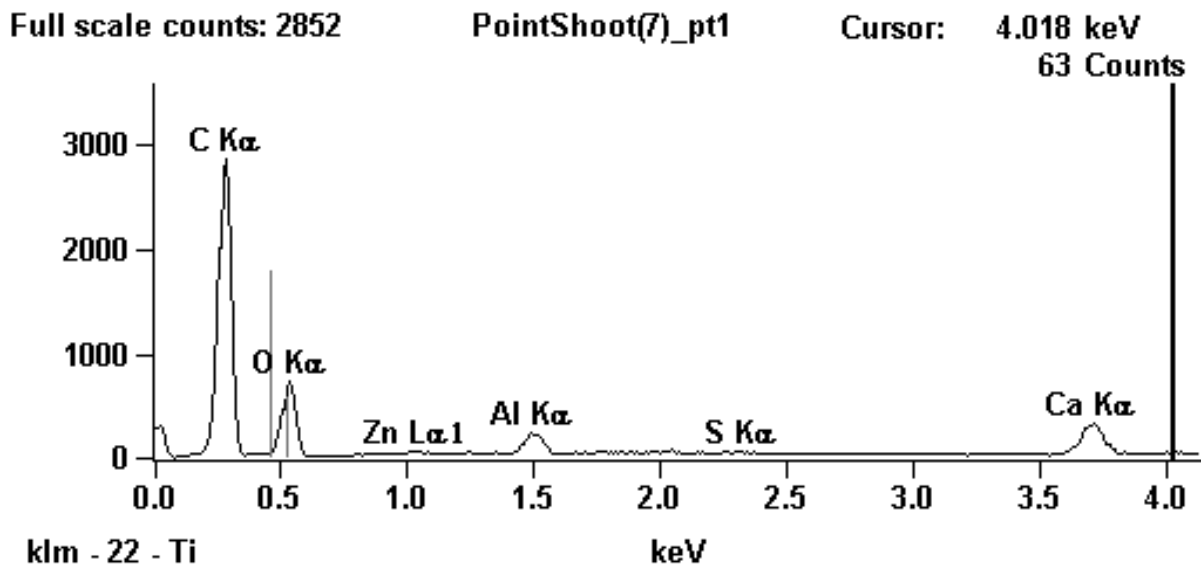


Figura 26: Espectro de partícula do Ponto A2 por difração de raios X.

No Ponto B1 foram encontrados pela análise alumínio (Fig. RR) e silício. Óxidos de alumínio e silício podem estar formando essas partículas pois há uma presença marcante de oxigênio.

Existem sinais de alumínio em todos os espectros devido a um reflexo da borda do suporte (Fig 26). Só foi considerada a presença de alumínio no particulado do ponto em quantidades notadamente acima deste sinal (Fig. 27).

Full scale counts: 432

Image(10)_pt2

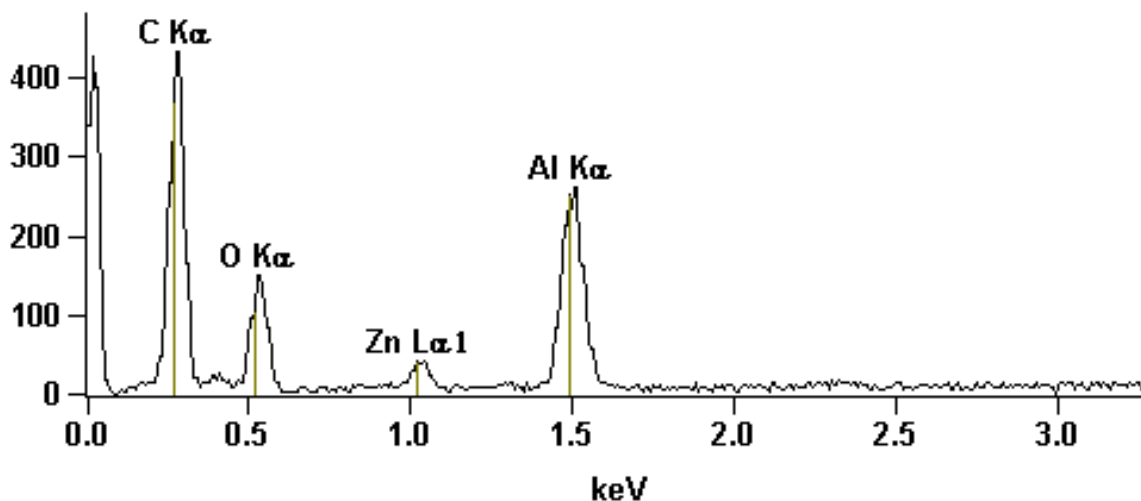


Figura 27: Espectro de partícula do Ponto B1 por difração de raios X.

No Ponto B2 encontramos nos espectros picos de enxofre, cálcio e oxigênio o que pode representar a formação de óxidos de enxofre e cálcio assim como moléculas orgânicas derivadas desses compostos (Fig. 28).

Full scale counts: 1792

PointShoot(8)_pt2

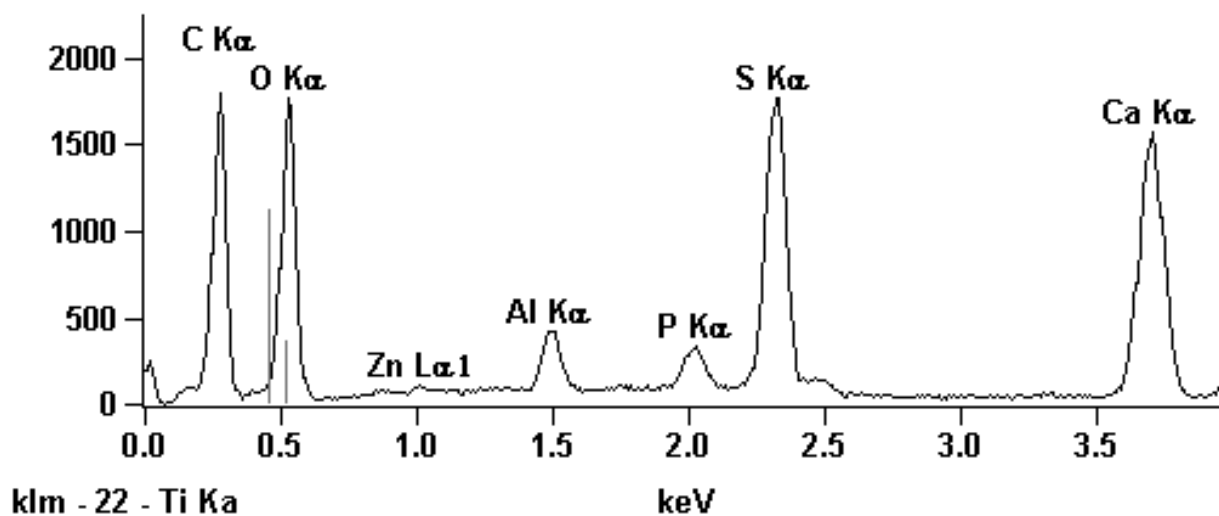


Figura 28: Espectro de partícula do Ponto B2 por difração de raios X.

Encontramos também, em espectros do Ponto B2 sinais de silício e alumínio. Óxidos desses dois elementos são amplamente encontrados no solo (Fig. 29)

Full scale counts: 2127

PointShoot(8)_pt4

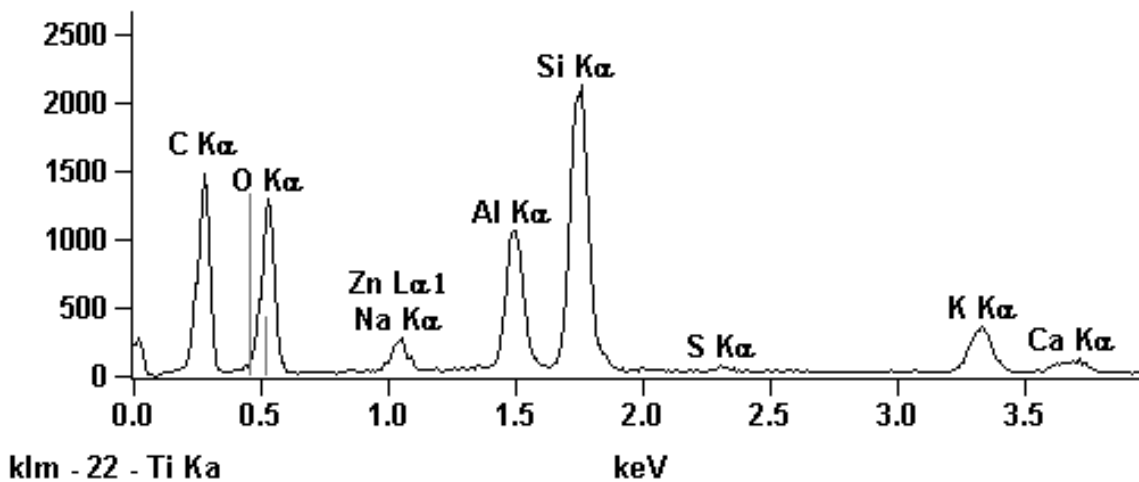


Figura 29: Espectro de partícula do Ponto B2 por difração de raios X.

Na Região C o material particulado possui um comportamento semelhante entre os dois pontos. No Ponto C1 encontramos picos de alumínio e silício (Fig. 30) assim como oxigênio. Os traços de enxofre estão muito próximos dos níveis de ruído.

Full scale counts: 2127

PointShoot(21)_pt1

Cursor: 2.974 keV
31 Counts

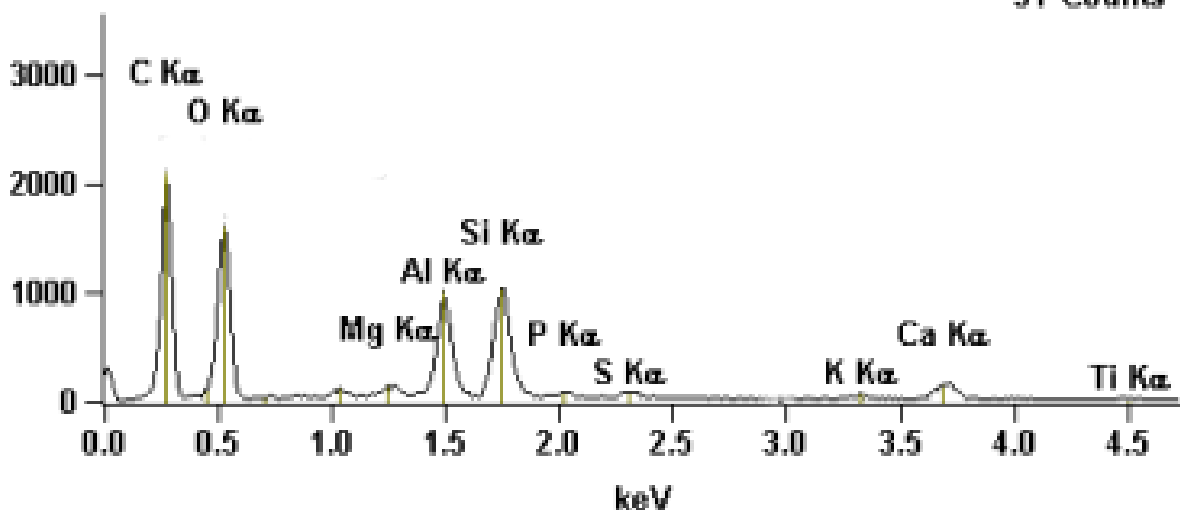


Figura 30: Espectro de partícula do Ponto C1 por difração de raios X.

No Ponto C2 também não foram encontrados partículas com elementos que podem ser derivados da poluição do ar, tendo o particulado do ponto quantidades marcantes de alumínio e silício (Fig. 31).

Full scale counts: 7043

Image(8)_pt1

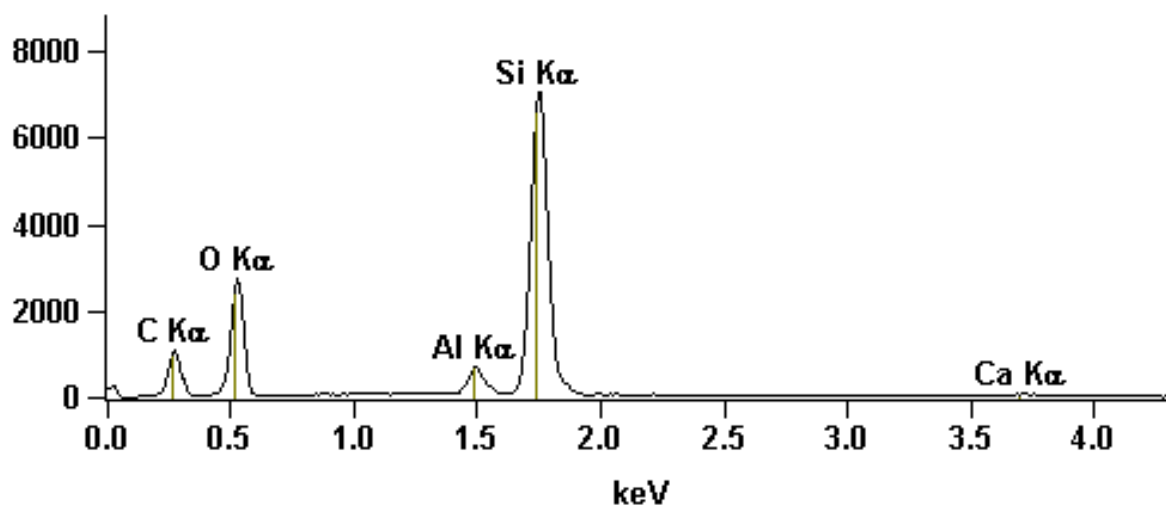


Figura 31: Espectro de partícula do Ponto C2 por difração de raios X.

4 DISCUSSÃO

No dia 19 de setembro de 2003 houve o dia internacional sem carro. Este dia é uma tentativa de alertar e conscientizar a população dos riscos da poluição do ar. Neste dia foi impedido o trânsito nas ruas centrais da cidade. Medições dos níveis de ozônio foram feitas em ruas movimentadas demonstrando a queda dos níveis do poluente.

Observando os dados deste trabalho podemos verificar que a Região B (zona central da cidade) não houve, no bioindicador *N. tabacum* var Bel-W3, nenhum prejuízo significativo ao desenvolvimento da planta causado pela poluição (Tabela 1).

Se a área central da cidade for a principal área de produção de poluentes gasosos, esses poluentes podem estar sendo transportados para a região periférica da cidade da mesma maneira que ocorreu na Espanha, onde GANGOITI et al. (2002) demonstraram que as altas concentrações de ozônio na Baía de Biscay eram provenientes de fontes formadoras no continente europeu e não da cidadezinha portuária.

Em seu trabalho FENGER (1999) chama de pluma urbana a massa de poluentes formada na região central e ou industrial das cidades e diz que essa pluma é levada preferencialmente para áreas descampadas como parques, praças e áreas residenciais. As áreas onde as plantas foram mais comprometidas apresentam esse perfil. O Centro Politécnico (Ponto A1) é uma grande área descampada e o Ponto C1 se encontra em uma área tipicamente residencial cercada de praças e terrenos baldios.

Essa tendência da pluma de poluição de estacionar em áreas abertas pode ser um dos fatores que fizeram com que as plantas do Ponto A1 tivessem um desenvolvimento menor que as do Ponto A2 em praticamente todas as análises efetuadas (Tabelas 1 e 8).

O Ponto A1 seria considerado um ponto livre de poluição do ar, visto que trabalhos anteriores consideraram esse ponto assim (BÜNDHEN, 2001, BUJOKAS, 2001). Entretanto em comparação com outro ponto da mesma região as plantas no Ponto A1 não se desenvolveram conforme o esperado.

A variedade Bel-W3 é mundialmente conhecida como planta sensível a ozônio, este pode ter sido o diferencial entre o desenvolvimento desta planta e o de outras espécies e variedades de plantas estudadas em trabalhos utilizando este mesmo ponto.

A rodovia (Br 277) que passa próximo ao Centro Politécnico é uma área de formação de poluentes primários, podendo estar livre da ação de poluentes secundários como o ozônio (GODZIK 1997, GOSH et al. 1998, FENGER, 1999, SAITANIS, 2003).

Entretanto podemos considerar a proximidade de uma área tradicionalmente formadora de ozônio como o aeroporto (PISON, MENUT, 2003) e a Br 116, também próxima, que pode ser um corredor de poluição da cidade industrial (FLORES et al. 1998, FENGER, 1999), influenciando os níveis de injúria (Tabela 1) no Ponto A1.

As plantas no Ponto A1 também apresentaram uma redução significativa na área foliar (Tabela 1). Todas as plantas foram transplantadas no mesmo dia. As mudas selecionadas para permanecer no vaso possuíam tamanho uniforme das folhas; os locais selecionados para que as plantas ficassem nos pontos possuíam condição semelhante de iluminação, distância de pontos de sombreamento e o mesmo substrato.

SAITANIS, KARADINOS (2002) trabalhando com plantas da mesma variedade em condições controladas, relacionam a redução de área foliar com o aumento das áreas necróticas, causadas pelo ozônio.. No Ponto A1, admitindo-se condições semelhantes de iluminação entre os pontos, podemos encontrar também essa relação. No Ponto C2 entretanto essa relação não é encontrada.

O Ponto C2 se encontra em uma região mais alta e arborizada que os outros pontos. A região é tipicamente residencial, entretanto tem proximidade com o bairro industrial.

Comparando as diferenças de desenvolvimento entre o Ponto C2 e o Ponto A1 podemos observar que no particulado do Ponto A1 temos, em várias partículas analisadas a presença de enxofre (Fig. 24), que não foi encontrado no particulado do Ponto C2 (Fig. 31).

A ação sinérgica entre o ozônio e outros poluentes em estudos de campo é amplamente conhecida (MOHREN et al. 1992, GODZIK 1997, GOSH et al. 1998, PISON, MENUT, 2003). Sendo assim outros poluentes juntamente como ozônio podem ter prejudicado o desenvolvimento das plantas no Ponto A1.

O ponto onde as plantas tiveram maior alteração no seu desenvolvimento foi o Ponto C1. FENGER (1999) propõe que grandes avenidas cercadas de prédios podem ser corredores onde a poluição vai ser transportada. Os gases formados nesses corredores vão reagindo e formando novos poluentes (JAZCILEVICH, 2003).

Este ponto fica localizado na conjunção de várias vias de intenso movimento de automóveis, próximo de área industrial e as barreiras geográficas desta área até o ponto não são de grande porte. A poluição produzida em vários pontos pode ser direcionada por esses corredores a um determinado local.

SAITANIS, KARADINOS (2002) indicam que o ozônio diminuiu o comprimento, área foliar e peso seco em Bel-W3. Nas plantas do Ponto C1 há uma diminuição do comprimento do caule e do peso seco, entretanto a área foliar parece não ter sido afetada (Tabela 1). As relações entre área de injúria, comprimento e peso seco encontradas por SAITANIS, KARADINOS (2002) e as plantas do Ponto C1 também são bastante semelhantes.

O Ponto C1 (Centro Politécnico) apresentou os menores valores de massa seca foliar e área específica foliar (Tabela 1) podemos assim dizer que as plantas nesse ponto apresentaram as folhas mais delgadas ou o menor limbo foliar. Segundo

GOUPTA; GOUSE, (1981) em folhas agredidas por SO₂ e NO₂ teriam na diminuição da espessura da folha uma defesa contra a ação de poluentes. Com folhas mais delgadas os gases poluentes atravessariam o limbo mais rapidamente causando menos dano.

Uma menor área foliar, segundo SAITANIS, KARADINOS, (2002), levaria a uma redução na utilização de luz e diminuição na assimilação de carbono, reduzindo assim o peso seco da planta. Nos dados deste trabalho essa relação foi inversa. Os pontos com maior área foliar apresentaram menor peso seco. Talvez o efeito encontrado por Gupta;(1981) tenha diminuído a espessura foliar, ao ponto de alterar a massa.

Essa diferença pode ter relação com os teores de clorofila encontrados não possuírem diferenças significativas apesar das alterações no desenvolvimento da planta. Nisto os dados encontrados neste trabalho diferem dos dados encontrados por SAITANI, RIGA-KARADINOS, KARADINOS, (2000), que encontraram teores menores de clorofila em plantas mais afetadas pelo ozônio.

BAUR, LAUCHERT, WILD (1998), em seu trabalho encontraram níveis semelhantes de clorofila na folhas de pinheiro analisadas, entretanto a fotossíntese e acúmulo de massa seca não foi semelhante em suas plantas pela eficiência diferencial dos cloroplastos. Cloroplastos com mudanças no comportamento dos tilacóides apresentavam a eficiência fotossintética diminuída.

Isso pode ter acontecido devido aos níveis de injúria por ozônio terem sido baixos. SAITANI, RIGA-KARADINOS, KARADINOS (2000), encontraram em seu trabalho uma correlação negativa entre teores de clorofila e injúria foliar, sendo que os menores teores foram encontrados em folhas com mais de 30% da área foliar injuriada, o que na maioria dos pontos não atinge 10% das folhas analisadas neste trabalho.

Portanto nos pontos mais comprometidos, onde o desenvolvimento da planta foi mais prejudicado, outros poluentes podem ter causado prejuízo maior ao desenvolvimento da planta que o ozônio.

Na região central as diferenças entre os fatores de desenvolvimento não foram tão acentuadas, sendo que para comprimento do caule, peso seco e massa específica foliar não foram significativas (Tabelas, 2, 4 e 7).

PIGNATA et al. (1999) ao definir parâmetros para medição de área foliar afirma ser a distância entre pontos sem barreiras uma das alternativas a serem consideradas para a escolha dos pontos. O Ponto B1 se encontra a aproximadamente um Km do Ponto B2 e em um desnível de pelo menos 30m. Isto pode ser uma distância pequena para causar diferenças entre as áreas foliares.

Na Região B quando os pontos apresentaram diferenças significativas o Ponto B2 foi o que apresentou plantas com menor massa fresca, área foliar, massa específica foliar e clorofila a (Tabelas 3, 5, 6, 8). O prejuízo do desenvolvimento das plantas do ponto 4 pode ter sido causado pelo tráfego intenso de veículos. Pignata et al (1999) encontrou prejuízo semelhante em plantas colocadas em locais com intenso tráfego de veículos.

As diferenças podem ter ocorrido devido a proteção da cobertura vegetal em torno do ponto 3 (Flores et al 1998) constatou que o maior numero de plantas no entorno dos ponto de seu trabalho protegiam as plantas desses pontos diminuindo o dono dos poluentes.

Na Região C as diferenças embora o Ponto C1 não apresente a mesma intensidade de lesão por ozônio que o Ponto C2 fatores atmosféricos podem ter influenciado as reações que formariam o ozônio no Ponto C1 ocorrendo uma inversão de comportamento que pode deslocar as condições para uma ação dos NOx que contataram que os óxidos de nitrogênio causariam diretamente a toxicidade nas plantas.

A Região A teve o Ponto A1 como ponto onde as plantas menos se desenvolveram, embora não fosse o que inicialmente se esperava. Como as plantas do Ponto 1 apresentaram maior intensidade de lesão por ozônio e a presença de enxofre no material particulado, a ação sinérgica desses dois poluentes pode ter causado a diferença (MOHREN et al (1992).

Essa região teve nos dois pontos uma massa específica foliar (MEF) abaixo da média. Segundo MOHREN et al (1992), uma MEF reduzida indica que a planta acumula menos massa por área e tem uma fotossíntese menos eficiente.

Tentando eliminar a subjetividade nas análises visuais de lesão foliar (CETESB, 2001) foram utilizados programas de análise de imagem de satélite para verificar sua eficácia na determinação dessas áreas.

Embora o programa seja tão eficiente em demarcar a área foliar quanto à mesa digitalizadora, houve dificuldades em delimitar a área de lesão. Para que essa área fosse delimitada com exatidão as fotos deveriam ser obtidas com a definição da foto, o contraste entre a borda da área de lesão os maiores possíveis e a sombra deve ser o menor possível.

RIBAS et al. (1997) teve dificuldades em diferenciar padrões colorométricos de plantas de *N. tabacum* var Bel W3, por causa do amarelamento das folhas com lesão. Esse amarelamento somado a baixa definição das fotografias tiradas com a folha recém colhida impossibilitaram ao programa a diferenciação exata das áreas de lesão confundindo-as com a sombra (Fig 5 e 6).

As fotos foram retiradas em baixa definição por que a metodologia foi elaborada tentando abranger da maneira mais barata e simples, ou seja usando câmaras digitais simples, baratas e de baixa definição e programas de análise de satélite disponibilizados gratuitamente na internet, até a maneira mais complexa utilizando câmaras digitais de alta definição ou escanerização em alta definição (CETESB, 2001), com programas de análise de satélite de uso comercial.

A primeira opção enfrentou os problemas técnicos acima expostos, a segunda opção se revelou muito morosa causando o amarelamento das folhas e dificultando, mesmo em alta definição o contraste entre as porções necrosadas e a porção amarela da folha.

Os caracteres diagnósticos para o tabaco incluem desde simples tricomas unisseriados que consistem de 2 a 10 células, sempre apontando para o ápice, mais

espessos na base e muito ocasionalmente ramificados; longos tricomas glandulares com 1 a várias células em sua cabeça (METCALFE,1965).

Todos os pontos revelaram em microscopia eletrônica de varredura a presença de tricomas tectores pluricelulares unisseriados com colabamento de parede. Considera ser causado pelo material particulado que desidrataria o tricoma BUJOKAS,(2001). Pode também ser causado pela área de necrose que atingiria o tricoma causando sua morte (Fig. 13). Entretanto, podemos notar na Figura 10 que o tricoma está colabado e não apresenta nem área necrótica ao seu redor nem material particulado aderido a superfície.

As áreas necróticas iniciais sempre possuem um tricoma tector. VOLLENWEIDER, OTTIGER¹, GÜNTHARDT-GOERG, 2003, examinando o efeito do ozônio em várias espécies arbóreas de uma floresta, notaram a existência de células parenquimáticas que eram o alvo inicial do ozônio na planta, sendo a partir dessas células o início da formação da lesão foliar. O ozônio pode então ser o causador do colabamento dos tricômas.

Em Bel-W3 os tricomas tectores ou células próximas podem estar envolvidos nesse início de formação da lesão. Quando a lesão apresentava poucas células, não foram evidenciados estômatos dentro da área de necrose.

Amostras revelaram a presença de material particulado na abertura dos estômatos (Fig. 11), isso pode afetar a condutividade de CO₂ (TAIZ; ZEIGER, 1998) o que em plantas de *N.tabacum* var Bel-W3 pode afetar o desenvolvimento da planta por diminuir a disponibilidade deste elemento essencial à fotossíntese(SAITANIS 2002).

Como o fechamento dos estômatos por material particulado pode prejudicar uma eventual abertura dos estômatos durante o dia, horário com maiores níveis de ozônio, ele pode ser vantajoso em casos críticos de ozônio impedindo que o gás tóxico penetre em grande quantidade na planta (EMBERSON; WIESER; ASHMORE, 2000, SAITANIS, 2002).

O material particulado também está associado a lesões na integridade da cutícula (Fig 12) o que pode facilitar a penetração de gases poluentes facilitando sua

ação na planta pela parede celular de onde pode penetrar na membrana plasmática causando, no caso do ozônio lesão à membrana (FUHRER, BOOKER, 2003).

Os estômatos nas áreas necrosadas encontravam-se fechados (Fig 15) isso pode ser um mecanismo de defesa da planta para evitar a difusão a partir de estômatos abertos, dos gases poluentes para os espaços intercelulares no mesofilo (EMBERSON, WIESER, ASHMORE, 2000).

O ozônio pode causar alterações cromossômicas, como nas plantas de *Tradescantia-micronucleus* (Trad-MCN) estudadas por (GUMARÃES et al; 2000) que podem causar alterações celulares como estômatos mal formados (Fig 20 e 21). Segundo GUMARÃES et al (2000) a genotoxicidade é tempo dependente e por isso uma vez comprovada pode alterar até seres humanos se os níveis de exposição se mantiverem com o tempo.

As lesões por ozônio provocam uma total desorganização das células e tecidos da planta (BAUR; LAUCHER; WILD, 1998) a lesão tem desenvolvimento centrífugo. As células perdem a turgescência, os parênquimas clorofilianas são descaracterizados e as células de condução destruídas (BAUR, LAUCHERT, WILD, 1998, EMBERSON, WIESER, ASHMORE, 2000, SAITANIS, 2002, FUHRER, BOOKER, 2003).

Em todos os pontos necróticos foram encontradas as mesmas características e folhas com pontos necróticos foram encontradas em todos os pontos. Em algumas amostras no local de necrose foi encontrada a presença de fungos, tanto na abertura do estômato quanto em tricomas (Fig 22).

O material particulado analisado por difração de raios x assinalou a presença de enxofre no Ponto A1 e 4 (Fig. 24 e 28). Segundo CHAURAN (1990) o enxofre causa lesões lisígenas ao penetrar na planta causando a liberação de etileno. O etileno tem ação antagônica ao ozônio (DIZENGREMEL; 2001, GODZIK; MANNING; 1998). Essa alteração pode ter sido responsável pela diminuição dos efeitos do ozônio nas plantas desses dois pontos.

Os pontos B2, C1 e C2 apresentam no particulado uma combinação de silício e alumínio. Embora esses componentes sejam amplamente encontrados no solo, TRIMBACHER e WEISS (1999) analisando plantas afetadas por fontes de poluentes tanto veiculares quanto industriais encontraram, sobre os estômatos dessas plantas, partículas ricas em alumínio e silício que são geradas em todos os processos de combustão.

No Ponto 4 podemos encontrar o enxofre, e a combinação alumínio e silício. A caracterização do material particulado é difícil e muito variada, entretanto combinações de partículas com provável origem de poluentes antrópicos como neste ponto podem indicar com facilidade e metodologia de maneira muito eficaz a provável origem deste particulado.

Embora as políticas de prevenção de poluição estejam com seus olhos voltados para as regiões centrais e pólos industriais da cidade, fatores de dispersão podem alterar as supostas áreas de perigo, levando poluentes perigosos para regiões inesperadas da cidade.

5 CONCLUSÕES.

Embora trabalhos anteriores tenham considerado o Ponto A1 como ponto não poluído, neste trabalho e para um bioindicador sensível a ozônio, os níveis de poluentes ali encontrados mostraram-se os maiores da região.

Na região nordeste da cidade o ponto onde as plantas menos se desenvolveram foi o do Centro Politécnico (Ponto A1), na região central da cidade houve pouca diferença significativa entre os pontos, entretanto o Ponto B2 (Santa Casa) foi onde as plantas menos se desenvolveram. Na região sudoeste da cidade o ponto onde as plantas menos se desenvolveram foi o da capela do Portão (Ponto C1).

Das três regiões da cidade estudadas neste trabalho a que apresentou os maiores níveis de lesão causada pelo ozônio e menores índices de desenvolvimento da planta foi a região sudoeste (Região C).

Embora o centro da cidade possa ser uma importante região geradora de poluentes, no presente trabalho foi constatado que nesta região, as plantas foram menos afetadas.

6 - REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAUR M, LAURCHERT U, WILD A, Biochemical indicators for novel forest decline in spruce, **Chemosphere**, v, 36, p 865-870, 1998

BENNETT J. P.; BUCHEN M. J., BIOLEFF: Three databases on air pollution effects on vegetation, **Environmental Pollution**, v. 88, p. 261 – 165, 1995

BRANCO, S, M.; MURGEL, E. **Poluição do ar**. São Paulo: Coleção polêmica, Editora Moderna, 1999

BUJOKAS W. M. **O Impacto da Poeira de Cimento em *Schinus terebinthifolius* Raddi**. . Curitiba, 2001. 95f. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná

BÜNDCHEN M. **Respostas Morfo-Anatômicas e Fisiológicas em folhas de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze (ARAUCAREACEAE) sujeitas a poluição urbana**. Curitiba, 2001. 68f. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

CETESB. 2001. **Relatório de qualidade do ar no Estado de São Paulo, 2000**. Série Relatórios.

CHAURAN, A. Early diagnosis of SO₂ – stress by volatile emissions in some crop plants. **Oecologia**, v. 84, p. 289 – 294, 1990.

DANNI-OLIVEIRA, I. M. **A cidade de Curitiba/Pr e a poluição do ar. Implicações de seus atributos urbanos e geocológicos na dispersão de**

poluentes em período de inverno. São Paulo, 1999. 320 f. Tese (Doutorado em Geografia) – Departamento de Geografia, Universidade Federal de São Paulo.

DIZENGREMEL P., Effects of ozone on the carbon metabolism of forest trees **Plant Physiology and Biochemistry** v 39, p 729-742, 2001.

EMBERSON L. D, WIESER G, ASHMORE M R, Modelling of stomatal conductance and ozone flux of Norway spruce: comparison with field data, **Environmental Pollution**, v 109, p 393-402, 2000

FENGER J. Urban air quality, **Atmospheric Environment**, v33, p 4877-4900, 1999

FLORES A, PICKETT S. T.A, ZIPPERER W. C, POUYAT R. V, PIRANI R. Adopting a modern ecological view of the metropolitan landscape: the case of a greenspace system for the New York City region. **Landscape and Urban Planning**, v 39, p 295–308, 1998

FUHRER J, BOOKERB F, Ecological issues related to ozone: agricultural issues, **Environment International**, v 29 p, 141– 154, 2003.

GALLELLI G., ORLANDO P., PERDELLI L., PANATTO D., Factors affecting individual exposure to NO in Genoa northern Italy. **The Science of the Total Environment** v 287, p 31-36, 2002.

GANGIOTI G., ALONSO L., NAVAZO M., ALBIZURI A., PEREZ-LANDA G., MATABUENA M., VALDENEbro V., MARURI M., GARCIA J. A., MILLAN M. M., Regional transport of pollutants over the Bay of Biscay: analysis of an ozone

episode under a blocking anticyclone in west-central Europe **Atmospheric Environment** v 36, 1349-1361, 2002

GODZIK B, MANNING W. J, - Relative effectiveness of ethylenediurea, and constituent amounts of urea and phenylurea in ethylenediurea, in prevention of ozone injury to tobacco, **Environmental Pollution**, v. 103, p 1-6,1998

GHOSH S., SKELLY J.M., INNES J.L, SKELLY L. Temporal development of visual ozone injury on the foliage of *Prunus serotina* - a statistical evaluation, **Environmental Pollution**, v 102, p 287-300, 1998.

GOUPTA, M. C.; GHOUSE, A. K. M. Effects of Coal-Smoke Pollutants from Different Sources on the Growth, Chlorophyll Content, Stem Anatomy and Cuticular Trails of *Euphorbia hirta* L. **Environmental pollution**, v. 47, p. 221-229, 1981

GUIMARÃES E.T., DOMINGOS M., ALVES E. S, CALDINI JR N, LOBOD. J. A, LICHTENFELS^a J. F. C, SALDIVA P. H. N, - Detection of the genotoxicity of air pollutants in and around the city of São Paulo (Brazil) with the *Tradescantia*-micronucleus (Trad-MCN) assay, **Environmental and Experimental Pollution**, v 44, p 1-8, 2000.

GRATANI L, CRESCENTE M.F, PETRUZZI M. Relationship between leaf life-span and photosynthetic activity of *Quercus ilex* in polluted urban areas (Rome), **Environmental Pollution**, v 110, p 19-28, 2002.

GODZIK B. Ground level ozone concentration in the Krakow region, southern Poland, **Environmental Pollution**, v 98, p 273-280, 1997

HUESEMANN M H. Can pollution problems be effectively solved by environmental science and technology? An analysis of critical limitations, **Ecological Economics**, v 37, p 271–287, 2001.

IAP 2000, **Relatório Qualidade do ar na Região Metropolitana de Curitiba ano 2000**, 2001, Série de relatórios.

JAZCILEVICH A.D., GARCÍA A.R, RUÍZ-SUÁREZ L. G. A study of air flow patterns affecting pollutant concentrations in the Central Region of Mexico **Atmospheric Environment** v, 37 p, 183–193, 2003.

LANGEBARTELS C, WOHLGEMUTH H, KSCHIESCHAN S, GRÜN S, SANDERMANN H. Oxidative burst and cell death in ozone-exposed plants, **Plant Physiol. Biochem**, v 40, p 567–575, 2002

LARCHER W. **Ecofisiologia Vegetal**, São Carlos: RiMa Artes e Textos, 2000.

LARSEN T.; CARMICHAEL. R. Acid rain and acidification in China: the importance of base cation deposition. **Environmental Pollution**, v.110 – 1, p. 89 – 102, 2000.

LORENZINI G, NALI C, BIAGIONI M. Long range transport of photochemical ozone over Tyrrhenian sea demonstrated by a new miniaturized bioassay with ozone-sensitive tobacco seedlings. **The Science of the Total Environment** v 166, p 193-199, 1995

LYONS T.J., KENWORTHY J.R, MOY C, DOS SANTOS F., An international urban air pollution model for the transportation sector, **Transportation Research Part D 8**, p 159–167, 2003.

MALHADAS Z. Z., ALQUINI Y., KUNZ A., GUIMARÃES O. M., TELLES J. E. Q., PERALTA-ZAMORRA P. **A Qualidade do Ar – Educação Ambiental para a Sustentabilidade. Projeto “ProAR”**, Curitiba: UFPR, 2002, 80p

METCALFE, C.R.; CHALK, L. **Anatomy Of The Dicotyledons**, London: Oxford University Press, 1965. VII, p 974,

MOHREN G.M.J, JORRITSMA I.T.M, VERMETTEN A.W.M., KROPFF M.J, SMEETS W.L.M, TIKTAK A. Quantifying the direct effects of so_2 and o_3 on forest growth, **Forest Ecology and Management**, v 51, p 131-150, 1992.

NOLLE M., ELLUL R., HEINRICH G., GÜSTEN H., A long-term study of background ozone concentrations in the central Mediterranean. Diurnal and seasonal variations on the island of Gozo **Atmospheric Environment**, v 36 p 1391-1402, 2002.

OLCESE L. M., TOSELLI B. M., - Some aspects of air pollution in Córdoba, Argentina. **Atmospheric Environment**, v 36, p 299 –206, 2002.

PEÑUELAS J, RIBAS A., GIMENO B.S, FILELLA I. Dependence of ozone biomonitoring on meteorological conditions of different sites in Catalonia (n.e. Spain) **Environmental Monitoring and Assessment**, Kluwer Academic Publishers. Netherlands. v 56, p 221–224, 1999.

PIGNATA M.L, GUDINO G. L, CANAS M. S, ORELLANA L Relationship between foliar chemical parameters measured in *Melia Azedarach* L. and

environmental conditions in urban areas. **The Science of the Total Environment**, v 243/244, p 85-96, 1999

PISON I, MENUT L, Quantification of the impact of aircraft traffic emissions on tropospheric ozone over Paris area, **Atmospheric environment**, v 7, p 01 – 13, 2003.

RAPPORT D J. The Health of Ecology and the Ecology of Health, Human and **Ecological Risk Assessment**: v 8, p 205-213, 2002.

RIBAS A, PELELLA L, GIMENO B.S, PENUELAS J, Evaluation of tobacco cultivars as bioindicators of ozone phytotoxicity leaves in catalonia, **Water, Air, and Soil Pollution**, Kluwer Academic Publishers. Netherlands, v 107, p 347–365, 1998.

SAITO S., NAGAO I., TANAKA H., Relationship of NOX and NMHC to photochemical O₃ production in a coastal and metropolitan areas of Japan, **Atmospheric Environment**, v 36, p 1277 – 1286, 2002

SAITANIS C.J. Background ozone monitoring and phytodetection in the greater rural area of Corinth—Greece, **Chemosphere**, v 51, p 913–923, 2003

SAITANIS C. J., KARADINOS M G., Effects of Ozone on Tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) Varieties, **J. Agronomy & Crop Science**, Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin v 188, p 51 – 58, 2002

SAITANIS C. J., KARADINOS M G., Instrumental recording and biomonitoring of ambient ozone in the Greek countryside **Chemosphere**, v 44, p 813 – 821, 2001

SAITANIS C. J., RIGA-KARADINOS A. N., KARADINOS M. G., Effects of ozone on chlorophyll and quantum yield of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) varieties **Chemeosphere**, v 42, i 8, p 945 – 953, 2001

SALDIVA, P.H.N., POPE, C.A. III, SCHWARTZ, J., DOCKERY, D., LICHTENFELS, A.J., SALGE, J.M., BARONE, I., BOHM, G.M., Air pollution and mortality in elderly people: a time-series study in São Paulo, Brazil. *Arch. Environ. Health*, v 50, p 159–163, 1995.

STRIBLEY G.H., ASHMORE M.R. Quantitative changes in twig growth pattern of young woodland beech (*Fagus sylvatica* L.) in relation to climate and ozone pollution over 10 years, **Forest Ecology and Management**, v 157, p 191–204, 2002.

TAIZ L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology**. Sunderland Massachusetts: Sinauer Associates, Inc., Publishers, 1998

TAYLOR, G., FROST, D.L., Impact of gaseous air pollution on leaf growth, of hybrid poplar. **Forest Ecology and Management**, v51, p 151-162. 1992.

VERGÉ X., CHAPUIS A., DELPOUX M. - Bioindicator reliability: the example of Bel W3 tobacco (*Nicotiana tabacum* L.), **Environmental Pollution**, v 118, p 337, 349, 2002.

VOLLENWEIDER P, OTTIGER M, GÜNTHARDT-GOERG M.S, Validation of leaf ozone symptoms in natural vegetation using microscopical methods **Environmental Pollution**, v 124, p 101–118, 2003

YOON S. W, LEE D. K, The development of the evaluation model of climate changes and air pollution for sustainability of cities in Korea, **Landscape and Urban Planning**, v 63 p, 145–160, 2003

YUNUS, et al Dust Loadings on Some Common Plants Near Lucknow City. **Environmental Pollution Series B** 9:71-80, 1985.

WEATHERLEY N. S., TIMMIS R. J. The atmosphere in England and Wales:an environmental management review **Atmospheric Environment** v 32, p 5567 – 5580, 2001.

WOLTERBEEK B. Biomonitoring of trace element air pollution: principles, possibilities and perspectives, **Environmental Pollution** v, 120 p, 11–21, 2002.

ANEXOS

PONTOS	REGIÕES	MÉDIA PONTOS	N	MÉDIA	t	GL	EP	P
1	A	26,67	36	29,39	3,506	34	1,55	<0,05
2		32,11	36					
3	B	30,05	36	29,47	0,409	34	2,85	>0,05
4		28,89	36					
5	C	23,56	35	28,6	4,444	33	2,34	<0,05
6		33,94	35					

Tabela 2: Teste t para comprimento do caule entre os pontos de cada região.

PONTOS	REGIÕES	MÉDIA PONTOS	N	MÉDIA	t	GL	EP	P
1	A	2,51	107	2,58	1,050	106	0,13	>0,05
2		2,65	107					
3	B	3,02	106	2,83	2,161	104	0,17	<0,05
4		2,65	106					
5	C	2,50	105	2,78	2,410	103	0,23	<0,05
6		3,05	105					

Tabela 3: Teste t para massa foliar entre os pontos de cada região.

PONTOS	REGIÕES	MÉDIA PONTOS	N	MÉDIA	t	GL	EP	P
1	A	0,32	108	0,30	2,162	106	0,018	<0,05
2		0,28	108					
3	B	0,27	106	0,28	1,311	104	0,020	>0,05
4		0,30	106					
5	C	0,19	106	0,29	7,933	104	0,024	<0,05
6		0,38	106					

Tabela 4: Teste t para massa seca foiar entre dois pontos de casa região.

PONTOS	REGIÕES	MÉDIA PONTOS	N	MÉDIA	t	GL	EP	P
1	A	51,4938	108	56,94029	3,980	106	2,737	<0,05
2		62,3867	108					
3	B	79,4531	106	70,9837	3,815	104	4,3577	<0,05
4		62,8279	106					
5	C	67,7504	106	72,63933	1,589	104	6,038	

6		77,3472	106					>0,05
---	--	---------	-----	--	--	--	--	-------

Tabela 5: Teste t para área foliar entre os pontos de cada região.

PONTOS	REGIÕES	MÉDIA PONTOS	N	MÉDIA	T	GL	EP	<i>P</i>
1	A	0,006988	108	0,005758	3,157	106	0,000779	<0,05
2		0,004528	108					
3	B	0,003400	106	0,004166	7,697	104	0,000195	<0,05
4		0,004903	106					
5	C	0,003080	106	0,00407	8,409	104	0,000231	<0,05
6		0,005023	106					

Tabela 6: Teste t para área específica foliar entre os pontos de cada região.

PONTOS	REGIÕES	MÉDIA PONTOS	N	MÉDIA	T	GL	EP	<i>P</i>
1	A	167,123	108	196,6758	7,252	106	8,1499	<0,05
2		226,228	108					
3	B	310,276	106	283,3935	1,040	104	50,748	>0,05
4		257,507	106					
5	C	386,701	106	295,1165	5,599	104	32,108	<0,05
6		206,924	106					

Tabela 7: Teste t para massa específica foliar entre os pontos de cada região.