

SIMONE FERREIRA DA SILVA

**Biomonitoramento das emissões de uma  
refinaria de petróleo em Cubatão, SP, com  
indivíduos jovens de *Psidium guajava* L.  
'Paluma'**

Dissertação apresentada ao Instituto de Botânica  
da Secretaria do Meio Ambiente, como parte dos  
requisitos exigidos para a obtenção do título de  
MESTRE em BIODIVERSIDADE VEGETAL  
E MEIO AMBIENTE, na Área de Concentração  
de Plantas Vasculares em Análises Ambientais.

SÃO PAULO

2012

SIMONE FERREIRA DA SILVA

**Biomonitoramento das emissões de uma  
refinaria de petróleo em Cubatão, SP, com  
indivíduos jovens de *Psidium guajava* L.  
'Paluma'**

Dissertação apresentada ao Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente, como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de MESTRE em BIODIVERSIDADE VEGETAL E MEIO AMBIENTE, na Área de Concentração de Plantas Vasculares em Análises Ambientais.

ORIENTADORA: DRA. REGINA MARIA DE MORAES

Ficha Catalográfica elaborada pelo **NÚCLEO DE BIBLIOTECA E MEMÓRIA**

Silva, Simone Ferreira

S586b Biomonitoramento das emissões de uma refinaria de petróleo em Cubatão, SP, com indivíduos jovens de *Psidium guajava* L. Paluma / Simone Ferreira da Silva -- São Paulo, 2012.

122p. il.

Dissertação (Mestrado) -- Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, 2012

Bibliografia.

1. Poluição atmosférica. 2. Fotossíntese. 3. Ozônio. I. Título

CDU: 628.395

*Aos meus pais, Luiz Carlos Ferreira da Silva e*

*Marina Ap. Venezian Ferreira da Silva.*

*E minha irmã Mônica Ferreira da Silva.*

Dedico.

*“Luz do Sol que a folha traga e traduz em verde novo,  
em folha, em graça, em vida, em força e luz. (...)*

*Marcha o homem sobre o chão, leva no coração uma ferida acesa.*

*Dono do sim e do não diante da visão da infinita beleza.*

*Finda por ferir com a mão essa delicadeza, coisa mais querida: a glória da vida.”*

*(Caetano Veloso)*

## AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de mestrado concedida nos primeiros cinco meses e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela bolsa de mestrado concedida posteriormente (Processo de Nº 2010/03060-6).

À minha orientadora, Dra. Regina Maria de Moraes, pela oportunidade oferecida, por todo o conhecimento transmitido e por me ensinar a fazer ciência através de um agradável convívio. Mais do que uma orientadora, foi também um amiga.

Ao Instituto de Botânica de São Paulo, em especial à coordenação do Programa de Pós-graduação em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente, ao Núcleo de Pesquisa em Ecologia e à Maria Helena e demais funcionários do Núcleo de Biblioteca e Memória.

À Dra. Marisa Domingos, coordenadora do projeto sob o qual pude desenvolver meu trabalho, e Dra. Mirian Rinaldi, por compartilharem seus conhecimentos contribuindo para o desenvolvimento deste trabalho.

À Dra. Edenise Segala Alves pelo auxílio nas correções finais desta dissertação.

Aos amigos do “Projeto Cubatão”, Daiane Teixeira da Silva, Ricardo Nakazato, Pedro Lembo, Marísia Espósito, Jéssica Nobre Espósito e Ana Paula Dias, pela parceria no desenvolvimento das atividades do projeto, pela troca de conhecimento e principalmente pela agradável e divertida convivência. Em especial, à Daiane, Ricardo e Pedro, mais do que parceiros de trabalho, tornaram-se meus grandes amigos. Espero poder continuar contando com vocês nas próximas etapas da minha vida.

Às Panteras, Amarilis, Valdenice, Marli e Dorinha, pelo auxílio no laboratório, nos plantios e no trabalho de campo em Cubatão.

Aos motoristas do Instituto de Botânica, em especial, Miguel e Renato, pelo auxílio nas idas e vindas de Cubatão, pelo auxílio no trabalho de campo e pela descontração nas viagens.

Aos integrantes da banca do Exame de Qualificação e da Defesa, Dr. Marcos Aidar, Dra. Vivian Tamaki, Dra. Patrícia Bulbovas e Dr. Sérgio Tadeu Meirelles, pelas contribuições dadas a este trabalho.

Aos amigos do Núcleo de Pesquisa em Ecologia, Paulinha Carvalho, Thiago Rodrigues dos Santos, Majoi Nascimento, Gisele Marquardt, Bárbara Pellegrini, Luciane Fontana, Jéssica Cristina e Andrea Pedroso, pessoas especiais que tornam o dia-a-dia na seção mais divertido. Um agradecimento especial à Sandra Viola e Robson, pelo auxílio no início deste trabalho. E, às meninas de “Paulínia”, Ane, Andressa, Pati G. e à pesquisadora Dra. Carla Zuliani.

À Dinorah pela dedicação ao alojamento, e principalmente pela amizade, pelas longas conversas e conselhos.

Aos amigos conquistados no alojamento. Às meninas que me receberam e me auxiliaram no início, em especial, Simone Wengrat, Camila Malone, Janaína Gonçalves dos Santos, Cristiane de Almeida Nascimento e Elisa Mitsuko, obrigada pelos conselhos, pelo amparo, pela troca de conhecimentos e pela agradável companhia. Um agradecimento mais do que especial para as “meninas do quarto 3”, Pryscilla Denise Almeida da Silva e Camilinha Pereira de Carvalho, por tudo o que me ensinaram, pelo apoio nos momentos mais difíceis e principalmente pela amizade. Agradeço também à Fernanda Karstedt, Ana Livia Negrão, Watson Arantes Gama, Ana Margarita, Luanda Soares, Thiara Siqueira, Juliana Farias, Michel Colmanetti, Guilherme Scotta, Levi Machado e Jadson Oliveira, pela agradável convivência no “aloja”, pelos momentos de descontração, pela troca de ideias e pela amizade.

Muitas pessoas, não envolvidas diretamente com este trabalho, contribuíram como “pontes e alicerces” essenciais para que eu pudesse chegar até aqui. Agradeço em especial ao Diego de Castro Rodrigues e à Izabel de Castro Rodrigues (também bióloga) pelo imenso apoio, incentivo e carinho.

À Fundação Hermínio Ometto (UNIARARAS), onde concluí minha graduação, em especial aos professores Dr. José Antônio Mendes e Dr. Olavo Raymundo Jr., responsáveis por alimentar minha admiração pela profissão de biólogo e me incentivar a seguir em frente.

Ao Pedro Bond Schwartsburd, não apenas pelo “Abstract”, mas principalmente pela compreensão, pelos sábados, domingos e feriados perdidos, pelo incentivo, e por estar ao meu lado também nestes momentos difíceis. Sua presença em minha vida nesta “reta final” fez toda a diferença. Muito obrigada pelo carinho e amor.

À Mônica Ferreira da Silva, mais do que irmã, uma amiga sempre presente em todos os momentos da minha vida.

Aos meus pais, Luiz Carlos Ferreira da Silva e Marina Ap. Venezian Ferreira da Silva (também bióloga), pela minha educação e condições de estudo, o que proporcionou a minha chegada até aqui. E principalmente pelo apoio essencial e pela certeza de que sempre estarão torcendo por mim. Obrigada por todo amor, carinho e dedicação.

Agradeço acima de tudo a Deus pela oportunidade desta vida e por ter iluminado o meu caminho me conduzindo até aqui. Agradeço por ter permitido o encontro com cada uma dessas pessoas tão especiais e fundamentais para a conclusão deste trabalho, muitas das quais já sinto saudade. Diante do trabalho finalizado, faço minhas as palavras de Chico Xavier: “Agradeço por todas as dificuldades que enfrentei, não fosse por elas, eu não teria saído do lugar. As facilidades nos impedem de caminhar”.

Obrigada.

## Índice

<i>Resumo</i> .....	i
<i>Abstract</i> .....	ii
<i>1. Introdução</i> .....	1
<i>2. Objetivos</i> .....	9
<i>3. Material e métodos</i> .....	10
3.1 Área de estudo.....	10
3.2 Experimentos.....	12
3.3 Espécie, Cultivo e Exposição .....	13
3.4 Condições meteorológicas e qualidade do ar .....	16
3.5 Análise de trocas gasosas .....	16
3.6 Curso diário do rendimento quântico potencial do fotossistema II (Fv/Fm) .....	17
3.7 Curva de resposta à luz.....	18
3.8 Injúrias foliares visíveis .....	19
3.9 Medidas de crescimento .....	20
3.10 Acúmulo de elementos .....	21
3.11 Análise estatística .....	21
3.12 Cronograma de alteração do sistema de energia da Refinaria Presidente Bernardes.....	22
<i>4. Resultados</i> .....	24
4.1 Experimento em condições ambientais .....	24
4.1.1 Condições meteorológicas e qualidade do ar .....	24
4.1.2 Trocas gasosas.....	30
4.1.3 Injúrias foliares visíveis .....	35
4.1.4 Crescimento.....	38
4.1.5 Análise de Componentes Principais .....	46
4.2 Experimento em câmaras de topo aberto .....	48
4.2.1 Condições meteorológicas e qualidade do ar .....	48

4.2.2 Trocas gasosas.....	49
3.2.3 Curva de resposta à luz.....	53
3.2.4 Curso diário do rendimento quântico potencial do fotossistema II (Fv/Fm) .....	54
3.2.5 Acúmulo de elementos .....	56
3.2.6 Injúrias foliares visíveis .....	58
3.2.7 Parâmetros de crescimento.....	59
5. <i>Discussão</i> .....	65
5.1 Experimento em condições ambientais .....	65
5.1.1 Condições climáticas e qualidade do ar .....	65
5.1.2 Trocas gasosas.....	69
5.1.3 Injúrias Foliares Visíveis.....	75
5.1.4 Crescimento.....	78
5.2 Experimento em câmaras de topo aberto .....	83
5.2.1 Condições climáticas e qualidade do ar .....	83
5.2.2 Trocas gasosas.....	84
5.2.3 Curso diário do rendimento quântico do fotossistema II (Fv/Fm) .....	86
5.2.4 Acúmulo foliar de elementos .....	88
5.2.5 Injúrias foliares visíveis .....	89
5.2.6 Crescimento.....	90
6. <i>Discussão integrada</i> .....	93
7. <i>Conclusão</i> .....	95
8. <i>Referências bibliográficas</i> .....	96
Anexos.....	108

## *Resumo*

A Floresta Atlântica situada na região da Serra do Mar em Cubatão, São Paulo, é afetada por diversos poluentes emitidos pelas várias indústrias existentes no local, dentre elas, a Refinaria Presidente Bernardes. Esta refinaria alterou seu modo de obtenção de energia, substituindo a queima de óleo em caldeiras por gás natural, um combustível mais limpo, a fim de reduzir o impacto de suas emissões, principalmente de dióxido de enxofre ( $\text{SO}_2$ ). A combustão de gás natural, entretanto, pode resultar no aumento das concentrações de precursores de ozônio ( $\text{O}_3$ ). Considerando as possíveis alterações no perfil de contaminação atmosférica, foi realizado este estudo de biomonitoramento com o objetivo de verificar se as respostas de *Psidium guajava* ‘Paluma’, espécie bioindicadora de  $\text{O}_3$ , seriam alteradas nessa nova situação. Em condições ambientais, as plantas foram expostas em 5 pontos com diferentes proximidades da refinaria (CM1, CM5, CEPEMA, Centro e RP), antes e após a mudança de combustível. Posteriormente, um segundo experimento foi realizado em condições semi-controladas, no qual as plantas foram mantidas em câmaras de topo aberto, duas delas ventiladas com ar ambiente e duas com ar filtrado. Foram realizadas 6 exposições em condições ambientais e 3 em condições semi-controladas, com duração de aproximadamente 90 dias cada uma. As plantas foram avaliadas quanto às trocas gasosas (assimilação líquida de carbono, Asat; condutância estomática, gs e transpiração, E), eficiência quântica potencial do fotossistema II (Fv/Fm), acúmulo foliar de N e S, crescimento e manifestação de injúrias foliares visíveis. Em condições ambientais, com a utilização do gás natural, as plantas apresentaram redução de Asat e gs assim como alterações no padrão de crescimento, como aumento na altura e redução na razão raiz/parte aérea, além de apresentarem injúrias foliares visíveis induzidas por  $\text{O}_3$ . No experimento semi-controlado, as plantas sob ar ambiente (AA) apresentaram tanto uma redução de Asat em resposta a altas concentrações de  $\text{O}_3$ , como um aumento em resposta a presença de  $\text{NO}_2$ , sem apresentar danos efetivos em Fv/Fm. Houve maior crescimento em diâmetro em resposta ao efeito fertilizante de  $\text{NO}_2$  e acúmulo foliar de N. Nos dois experimentos, as respostas de *P. guajava* ‘Paluma’ foram alteradas devido à troca do combustível. Além do  $\text{O}_3$ , outros poluentes devem também estar agindo e promovendo o estresse oxidativo, ao menos em locais de maior altitude. Embora o  $\text{NO}_2$  esteja promovendo um efeito benéfico nas plantas mantidas em câmaras de ar ambiente, este efeito não pode ser garantido em longo prazo. Desse modo, não é possível garantir que a troca de combustível tenha resultado em ganho ambiental.

## *Abstract*

The Atlantic Forest areas of the Municipality of Cubatão (São Paulo, Brazil) are affected by several pollutants emitted by the local industries. One of these is the Presidente Bernardes oil refinery. This refinery has changed its source of energy, replacing the oil burn for natural gas (a “cleaner” fuel), in order to reduce the impact of its emissions over the ecosystem, especially the sulphur dioxide (SO<sub>2</sub>). On the other hand, the natural gas burn may increase the concentrations of ozone (O<sub>3</sub>) precursors. Considering the possible changes in the atmospheric contamination levels, the present biomonitoring study aimed to verify if the responses of *Psidium guajava* ‘Paluma’ (a bioindicator of O<sub>3</sub>) would change, over this new situation. Plants were exposed to natural conditions in five different spots, each in a different distance to the refinery (CM1, CM5, CEPEMA, Centro, and RP), both before and after the fuel exchange. Then, a second experiment was carried out in semi-controlled conditions. In this experiment the plants were kept into open top chambers with two different kinds of ventilation: two with ambient air, and two with filtered air. Six exposures in environmental conditions were performed, and three in semi-controlled conditions (proximal length of 90 days each). The plants were evaluated as to their gas exchanges (light-saturated net photosynthesis), Asat; stomatal conductance, *g<sub>s</sub>* and transpiration, *E*), photochemical quantum efficiency of the photo-system II (*F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>*), leaf accumulation of N and S, growth, and leaf injuries. In the environmental conditions, with the use of natural gas, the plants presented Asat and *g<sub>s</sub>* reductions, alterations in the growth patterns (*e.g.* increase in height and reduction of root/shoot ratio), and O<sub>3</sub>-induced leaf injuries. In the semi-controlled experiment, the plants kept under ambient air (AA) presented both Asat reduction in response to high concentrations of O<sub>3</sub>, as well as Asat increase in response to the presence of NO<sub>2</sub>, without presenting damage in *F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>*. Growth in diameter was higher as responses to the fertilizing effect of the NO<sub>2</sub> and leaf accumulation of N. In both experiments, the responses of *P. guajava* ‘Paluma’ were altered due to fuel exchange. Besides O<sub>3</sub>, other pollutants might be acting and inducing the oxidative stress, at least in the higher elevation areas. Although NO<sub>2</sub> is promoting a benefited effect on the plants kept inside chambers with ambient air (AA), such effect can not be guaranteed in a long time period. Thus, it is not possible to conclude that the fuel exchange has resulted in environmental gain.

## 1. Introdução

---

A localização estratégica da cidade de Cubatão, SP, entre o Porto de Santos e a Grande São Paulo, associada ao seu terreno plano, à disponibilidade de energia e de mão-de-obra barata, favoreceu a instalação de um amplo complexo industrial na região. O processo de industrialização teve início em 1950, com a instalação da Refinaria Presidente Bernardes, pertencente à Petrobrás S.A., primeira indústria de grande porte e com alto potencial poluidor construída em Cubatão. O período entre 1950 e 1980 foi caracterizado por um rápido e descontrolado desenvolvimento industrial, culminando em elevadas emissões de poluentes atmosféricos em uma área que apresenta clima e relevo desfavoráveis à dispersão dos mesmos. Como consequência, surgiram sérios problemas de poluição ambiental, marcando a década de 1980 como o auge da poluição, período em que os danos à vegetação atingiram nível de paisagem (Bragança 1987, Leitão Filho 1993).

Os efeitos fitotóxicos dos poluentes resultaram na morte de indivíduos de espécies sensíveis e na rarefação do dossel, deixando o solo desprotegido e sujeito aos processos erosivos, o que resultou em grandes deslizamentos na Serra do Mar. Diante dessa situação surgiram os primeiros estudos da ação dos poluentes atmosféricos na floresta do entorno e foi formulado pela Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB) o “Plano de Ação para Controle da Poluição Ambiental de Cubatão”, reunindo o poder público, a comunidade científica e a população (Alonso & Godinho 1992, Gutberlet 1996).

Apesar da redução das emissões, o impacto dos poluentes sobre a vegetação ainda existia no final da década de 1990, quando numerosos estudos foram realizados na região da Serra do Mar por grupos de pesquisa do Instituto de Botânica (São Paulo), da CETESB e das Universidades de São Paulo, Essen e Kassel (Alemanha) (Klumpp *et al.* 1994, Klumpp *et al.* 1997, Domingos *et al.* 1998, Klumpp *et al.* 2000, Moraes *et al.* 2003, Szabo *et al.* 2003, Furlan *et al.* 2004, Furlan *et al.* 2007). Particularmente no entorno da Refinaria Presidente Bernardes (RPBC), estudos de campo revelaram que as porções da Floresta Atlântica estavam sob forte estresse causado por óxidos de nitrogênio ( $\text{NO}_x$ ), dióxido de enxofre ( $\text{SO}_2$ ) e material particulado (MP) contendo componentes tóxicos, como metais pesados. Poluentes secundários, como o ozônio ( $\text{O}_3$ ) e nitrato de peroxiacetila (PAN), também apresentavam concentrações fitotóxicas naquela época, especialmente nas encostas de montanhas próximas à RPBC, em altitudes ao redor de 400 m. Atualmente, segundo dados da CETESB (2011), o perfil de contaminação continua caracterizado pelos mesmos poluentes.

Buscando a melhoria da qualidade do ar, a Refinaria Presidente Bernardes promoveu uma mudança em seu sistema de geração de energia substituindo a queima de óleo em

caldeiras por um sistema de co-geração de energia e vapor movido a gás natural que opera a Usina Termoelétrica (UTE) Euzébio Rocha, construída com essa finalidade. O objetivo desta alteração foi optar pela utilização de um combustível mais limpo e assim reduzir as emissões de SO<sub>2</sub>, gerando benefícios à população e também à vegetação da floresta Atlântica do entorno. O novo modo de obtenção de energia, entretanto, pode resultar no aumento da emissão de NO<sub>2</sub> e compostos orgânicos voláteis precursores do O<sub>3</sub>, que não apresentava concentrações muito elevadas na região (Petrobrás 2009, CETESB 2011).

Os poluentes sempre estiveram presentes na atmosfera terrestre, uma vez que eles podem ser emitidos através de fontes naturais, como aqueles que são liberados pela atividade vulcânica, por incêndios florestais causados por raios e pela suspensão de partículas de sais marinhos. No entanto a poluição atmosférica tornou-se um problema após a Revolução Industrial, devido ao aumento nas emissões de poluentes por fontes antrópicas (Krupa 1997). A queima de combustíveis para a geração de energia causou um aumento na liberação de resíduos, os quais foram se acumulando na atmosfera, atingindo concentrações tóxicas. Esse problema foi se agravando com a expansão das cidades, o aumento no tráfego de veículos, o rápido desenvolvimento econômico e os altos níveis de consumo de energia (Freedman 1995).

Segundo Freedman (1995), poluente atmosférico é definido como qualquer substância adicionada à atmosfera em concentrações suficientemente altas para causar efeitos mensuráveis nos seres vivos e em materiais. Já a Resolução Conama N° 3, de 28/06/1990 considera poluente atmosférico como “qualquer forma de matéria ou energia com intensidade e em quantidade, concentração, tempo ou características em desacordo com os níveis estabelecidos e que tornem ou possam tornar o ar impróprio, nocivo ou ofensivo à saúde, inconveniente ao bem-estar público, danoso aos materiais, à fauna e à flora ou prejudicial à segurança, ao uso e gozo da propriedade e às atividades normais da comunidade”.

De acordo com sua origem os poluentes atmosféricos são classificados como primários e secundários. Os poluentes primários são aqueles emitidos diretamente das fontes de poluição, como por exemplo, monóxido de carbono, dióxido de enxofre, monóxido de nitrogênio, dióxido de nitrogênio, material particulado, fluoretos, hidrocarbonetos e metais. Na atmosfera, os poluentes primários podem reagir entre si ou com os constituintes naturais da atmosfera e dar origem a poluentes secundários, como o O<sub>3</sub> e PAN (Freedman 1995, CETESB 2011).

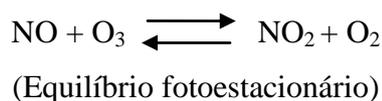
Apesar da grande diversidade de poluentes, a determinação da qualidade do ar está restrita a um número de poluentes definidos em função de sua importância e dos recursos materiais e humanos disponíveis. De forma geral, o grupo de poluentes consagrados universalmente como indicadores mais abrangentes da qualidade do ar é: monóxido de

carbono, dióxido de nitrogênio, dióxido de enxofre, material particulado e ozônio. A razão de sua escolha como indicadores de qualidade ar está ligada a sua maior ocorrência e aos efeitos adversos que causam ao meio ambiente e à saúde humana (CETESB 2011).

Os principais poluentes presentes na região da Refinaria Presidente Bernardes são: MP, SO<sub>2</sub>, NO<sub>x</sub> e compostos orgânicos voláteis (COVs). Segundo Freedman (1995), os materiais particulados são partículas que se mantêm suspensas na atmosfera, cuja composição é variada, podendo ser constituído de poeiras, fumaças e todo o tipo de material sólido ou líquido, incluindo até mesmo a presença de metais pesados. As principais fontes de emissão de MP para a atmosfera são os veículos automotores, os processos industriais, a queima de biomassa e a re-suspensão de poeira do solo. O SO<sub>2</sub> resulta principalmente da queima de combustíveis que contém enxofre, como óleo diesel, óleo combustível industrial e gasolina. Óxidos de nitrogênio são formados durante processos de combustão em indústrias e veículos, e têm papel importante na formação de oxidantes fotoquímicos. Os COVs são liberados pela queima incompleta e evaporação de combustíveis e solventes. Estes formam a chamada névoa fotoquímica ou “smog fotoquímico”, que possui este nome porque causa na atmosfera diminuição da visibilidade. O principal produto da reação entre estes poluentes é o O<sub>3</sub> que é utilizado como indicador da presença de oxidantes fotoquímicos na atmosfera (Bermejo *et al.* 2010).

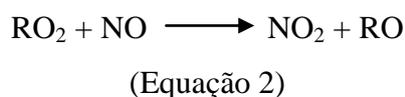
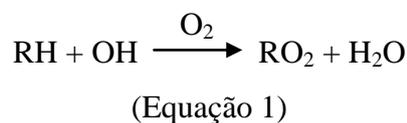
O O<sub>3</sub> está presente de forma natural nas camadas da atmosfera. Quando presente na estratosfera ele atua como um filtro absorvendo a radiação ultravioleta que chega à Terra. No entanto, o aumento das concentrações de O<sub>3</sub> troposférico devido às atividades antrópicas, faz com que este atue como um poluente atmosférico, tornando-se danoso aos seres vivos devido à sua ação oxidante (Krupa *et al.* 2001, Vingarzan 2004).

Em condições normais o O<sub>3</sub> é formado através de reações fotoquímicas entre dióxido de nitrogênio e oxigênio molecular, originando além do O<sub>3</sub>, o monóxido de nitrogênio (NO). O NO, por sua vez, pode atuar no consumo de ozônio dando origem ao dióxido de nitrogênio e oxigênio molecular, gerando um equilíbrio denominado fotoestacionário (Krupa 1997).



Em uma atmosfera poluída, o aumento das concentrações de O<sub>3</sub> troposférico se deve à perda deste equilíbrio fotoestacionário devido a reações com outros poluentes primários. A reação mais comum ocorre com os COVs, como os hidrocarbonetos emitidos durante a queima incompleta de combustíveis fósseis. Na presença de luz solar a radical hidroxila (OH),

naturalmente presente na atmosfera, reage com os hidrocarbonetos produzindo radical peróxi (RO<sub>2</sub>) (Equação 1). O radical peróxi oxida NO a NO<sub>2</sub> (Equação 2), sem que ocorra o consumo de O<sub>3</sub>. Nessas condições, a subsequente fotólise de NO<sub>2</sub>, seguida da reação com o O<sub>2</sub> é uma fonte líquida de produção de O<sub>3</sub> troposférico (Krupa & Manning 1988, Krupa 1997, Jacob 1999).



Todos estes compostos, quando presentes no ar em concentrações elevadas, são capazes de alterar diversos processos fisiológicos e metabólicos em espécies vegetais do entorno da refinaria, notadamente na região da Serra do Mar, como foi evidenciado por vários estudos (Klumpp *et al.* 1994, Domingos *et al.* 1998, Klumpp *et al.* 2000, Moraes *et al.* 2003, Szabo *et al.* 2003, Furlan *et al.* 2004, Furlan *et al.* 2007).

Em ambientes onde o SO<sub>2</sub> encontra-se em baixas concentrações, ele pode entrar no metabolismo do enxofre como se tivesse sido absorvido pelas raízes, atuando como nutriente para as plantas (Szabo *et al.* 2003). Assim como o SO<sub>2</sub>, o NO<sub>2</sub> atmosférico, quando absorvido em baixas concentrações pode ser metabolizado e apresentar um efeito nutricional, principalmente em plantas crescendo sobre solos deficientes em nitrogênio (Mansfield 2003). Os efeitos diretos do NO<sub>2</sub> nas plantas ainda são pouco conhecidos, mas sabe-se que quando a demanda nutricional por nitrogênio é excedida, há um custo metabólico resultante do combate à ação do nitrito, que é tóxico (Siegwolf *et al.* 2001).

Embora sejam geralmente necessárias altas concentrações atmosféricas de NO<sub>2</sub> para o surgimento de danos em espécies vegetais, sabe-se atualmente que quando o NO<sub>2</sub> é encontrado na presença de SO<sub>2</sub>, sua ação fitotóxica é aumentada (Mansfield 2003). Essa situação ocorre com frequência, pois o NO<sub>2</sub> raramente é encontrado sozinho, uma vez que ambos são originados da queima de combustíveis fósseis. De modo geral, a interação entre os poluentes, comum em regiões industriais, pode gerar efeitos aditivos ou até mesmo sinérgicos, acentuando os efeitos nocivos, ou ainda pode gerar um efeito antagônico, amenizando esses efeitos (Fangmeier *et al.* 2003).

A entrada dos poluentes gasosos nas plantas, como o  $\text{NO}_2$ ,  $\text{SO}_2$  e o  $\text{O}_3$  ocorre principalmente pela via estomática obedecendo ao gradiente de concentração do poluente dentro e fora da folha e a condutância estomática, embora uma pequena parcela possa entrar via cutícula (Darrall 1989, Sánchez *et al.* 2001). Os metais pesados geralmente são depositados no solo e penetram na planta através do sistema radicular ou, quando adsorvidos no MP, podem ser depositados na superfície foliar facilitando sua entrada pelos estômatos. O MP por sua vez, pode provocar danos mecânicos, e facilitar a entrada de poluentes no interior da folha (Larcher 2000), assim como a chuva ácida, ao provocar a erosão da cutícula.

Quando presentes no apoplasto, o  $\text{NO}_2$  e o  $\text{SO}_2$  se dissociam em íons, os quais podem ser assimilados pelo metabolismo, uma vez que, estes compostos não são estranhos para o organismo vegetal. No entanto, em altas concentrações, a dissociação em íons promove a liberação de prótons e conseqüentemente a acidificação do meio. O dano por acidificação só ocorrerá se a concentração desses poluentes ultrapassar a capacidade de tamponamento da planta, uma vez que, estas possuem mecanismos para a manutenção do pH (Rennenberg & Gessler 1999, Larcher 2000, Fangmeier *et al.* 2003, Mansfield 2003).

Além da acidificação, os poluentes atmosféricos também podem causar efeitos oxidantes, e neste caso o  $\text{O}_3$  é o mais reativo. Quando presente no apoplasto, o  $\text{O}_3$ , se dissocia rapidamente formando espécies reativas de oxigênio (EROs). A formação dessas espécies reativas é comum nos processos metabólicos do organismo vegetal, desse modo as plantas possuem mecanismos de defesa antioxidante capaz de neutralizar a ação destas espécies. Fazem parte do sistema antioxidativo enzimas como a superóxido dismutase, ascorbato peroxidase, glutatona redutase e compostos como o ácido ascórbico, entre outros. A absorção prolongada de poluentes pode exceder a capacidade de desintoxicação do sistema antioxidante, e desencadear o estresse oxidativo. Neste caso as EROs, reagem com biomoléculas causando peroxidação lipídica e desnaturação de proteínas, o que altera a integridade das membranas. Uma vez presente no interior celular, as EROs, podem reagir com outras biomoléculas presentes nas membranas das organelas intensificando cada vez mais o estresse oxidativo (Ashmore 2003, Blokhina *et al.* 2003, Long & Naidu 2003, Halliwell 2006).

A fotossíntese é um processo particularmente suscetível ao estresse induzido pelos poluentes, que podem inibir ou provocar danos em todas as etapas, desde a captura de luz até o acúmulo de amido (Farage *et al.* 1991).

A acidificação do interior do cloroplasto pode causar a inativação da enzima ribulose 1,5-bifosfato carboxilase-oxigenase (Rubisco), a qual permanece ativa em um pH ideal. Além disso, os íons sulfito, oriundos do  $\text{SO}_2$ , competem com o  $\text{CO}_2$  pelo sítio de ligação da Rubisco

carboxilase, reduzindo a fixação do CO<sub>2</sub> (Larcher 2000). Entretanto, o principal efeito fitotóxico está associado com a ação das EROs na enzima Rubisco. Embora os mecanismos da resposta da fotossíntese ao O<sub>3</sub> ainda não estejam totalmente elucidados, sabe-se que uma das etapas mais sensíveis é a carboxilação devido a reduções na síntese e na quantidade da enzima Rubisco (Pell *et al.* 1997, Farage & Long 1999, Rennenberg & Gessler 1999, Long & Naidu 2002, Ashmore 2003).

Restrições em qualquer das etapas da fotossíntese repercutirão no transporte de energia pela membrana fotossintética, podendo provocar fotoinibição (Long & Naidu 2002). Sendo assim, os danos na etapa fotoquímica têm sido considerados como um estresse secundário. Reduções no consumo de NADPH e ATP pelo Ciclo de Calvin impedem a dissipação fotoquímica, ocasionando um acúmulo de energia no tilacóide. Como mecanismo de proteção essa energia passa a ser dissipada na forma de calor ou através da re-emissão luminosa (fluorescência). Se o dano no Ciclo Calvin persistir, esse acúmulo de energia poderá promover a formação de EROs no tilacóide e induzir a fotoinibição. Com isso tem-se uma redução na síntese de ATP e NADPH. De fato, danos aos fotossistemas resultantes da degradação da clorofila e da redução da eficiência fotoquímica do PSII, têm sido verificados em plantas expostas ao O<sub>3</sub> (Guidi *et al.* 2000, Castagna *et al.* 2001, Moraes *et al.* 2004).

Quanto à resposta estomática, ainda que a maior parte das evidências indique que a sua redução seja uma consequência do aumento na concentração interna de CO<sub>2</sub> devido a danos no Ciclo de Calvin (Farage *et al.* 1991, Long & Naidu 2002), é possível que o estresse oxidativo, ao alterar as relações iônicas e hídricas das células-guarda e subsidiárias, possa também provocar alterações diretas na condutância. Essas alterações podem variar desde a redução da condutância, limitando a fixação de CO<sub>2</sub>, até a perda da turgescência destas células e conseqüentemente a abertura estomática (Legge & Krupa 2003).

A diminuição da capacidade fotossintética pode levar a alterações na partição de carbono e na produção de metabólitos que, finalmente, acabam por influenciar características de crescimento. Em resumo, os efeitos da poluição se iniciam em nível bioquímico, evoluem para um nível ultraestrutural, com desorganização das membranas, passando então para o nível celular, chegando finalmente a sintomas visíveis como cloroses ou necroses do tecido foliar ou alteração no crescimento e desenvolvimento da planta (Iqbal *et al.* 1996). Sendo o crescimento o resultado da integração de vários processos fisiológicos e bioquímicos, sintetiza todas as respostas da planta aos diversos fatores que a induziram ao estresse ao longo do tempo. Deste modo, alterações no crescimento são verificadas com frequência em plantas expostas a poluentes aéreos (Mooney & Winner 1988, Pandey & Agrawal 1994, Bortier *et al.* 2000, Krupa *et al.* 2001, Kolb & Matyssek 2003).

As alterações constatadas no organismo vegetal em resposta aos poluentes atmosféricos podem ser utilizadas no biomonitoramento da qualidade do ar (De Termmerman *et al.* 2004).

O biomonitoramento é a utilização de seres vivos para a verificação e avaliação das condições ambientais (Klumpp 2001). Ele fornece alertas quanto à ocorrência de mudanças no ambiente, produz evidências sobre danos em ecossistemas naturais e agrícolas, determina a variação espacial e temporal dos efeitos dos poluentes, fornece dados para modelagens e previsão de risco, entre outras funções (Klumpp 2001). Embora o biomonitoramento não substitua os métodos físico-químicos, ele fornece informações complementares a tais medidas e possibilita uma ampliação significativa da área de abrangência de monitoramento, que geralmente é restrito devido ao alto custo de implantação (Arndt & Schweizer 1991). Além disso, como as respostas dos organismos resultam não só da concentração do poluente no ar, mas da interação desta com as condições climáticas e com as características biológicas de cada espécie, o uso de bioindicadores confere significado biológico ao monitoramento físico-químico (Manning 2003), evidenciando o estresse a que as plantas e a vegetação foram expostas (Smith *et al.* 2003).

Uma espécie bioindicadora sensível é aquela que exibe injúrias visíveis quando exposta a um determinado poluente ou mistura de poluentes (De Termmerman *et al.* 2004). Um difundido bioindicador da poluição por ozônio é a cultivar *Nicotiana tabacum* 'Bel-W3' que vem sendo empregada há várias décadas no mapeamento e distribuição geográfica das concentrações fitotóxicas de O<sub>3</sub> (Heggstad 1991). Contudo, a utilização de espécies nativas no biomonitoramento permite uma avaliação mais precisa, uma vez que estas espécies são adaptadas às condições climáticas vigentes, permitindo, portanto, a obtenção de uma resposta com significado ecológico (Manning 2003).

O potencial bioindicador da presença de ozônio no ar foi recentemente definido para a espécie tropical *Psidium guajava* cultivar 'Paluma' (Goiabeira) por meio de exposição sob condições controladas (câmaras de topo aberto com e sem fumigação com ozônio), quando apresentou manifestação de injúrias foliares visíveis induzidas por O<sub>3</sub> (Furlan *et al.* 2007). Sob condições ambientais na cidade de São Paulo, esta espécie também apresentou alterações no sistema antioxidativo e nas trocas gasosas na presença de O<sub>3</sub> (Dias *et al.* 2007, Pina & Moraes 2010, Pina 2010). Pela primeira vez ela estará sendo exposta em região industrial. Além disso, estudos anteriores realizados em Cubatão evidenciaram que *P. guajava* também possui a capacidade de acumular elementos potencialmente fitotóxicos em seus tecidos foliares (Moraes *et al.* 2002, Furlan *et al.* 2004).

Dessa forma, as variáveis biológicas estudadas neste experimento foram, a fotossíntese, o crescimento, a manifestação de sintomas foliares visíveis e o acúmulo foliar de enxofre e nitrogênio. A importância do estudo da fotossíntese em plantas submetidas ao estresse induzido por poluentes reside no fato deste processo ser, geralmente, o primeiro alvo do estresse, o primeiro a ser afetado, ocorrendo sua redução mesmo antes da manifestação de sintomas visíveis.

## 2. *Objetivos*

---

Considerando-se que Refinaria Presidente Bernardes, em Cubatão, SP, mudaria o combustível utilizado em seus processos de obtenção de energia e que era previsto a redução das emissões de SO<sub>2</sub> e o aumento das emissões de compostos precursores do ozônio, foi realizado este estudo de biomonitoramento com o objetivo de verificar se as respostas de *Psidium guajava* 'Paluma', espécie bioindicadora de ozônio, seriam alteradas nessa nova situação.

### 3. Material e métodos

---

#### 3.1 Área de estudo

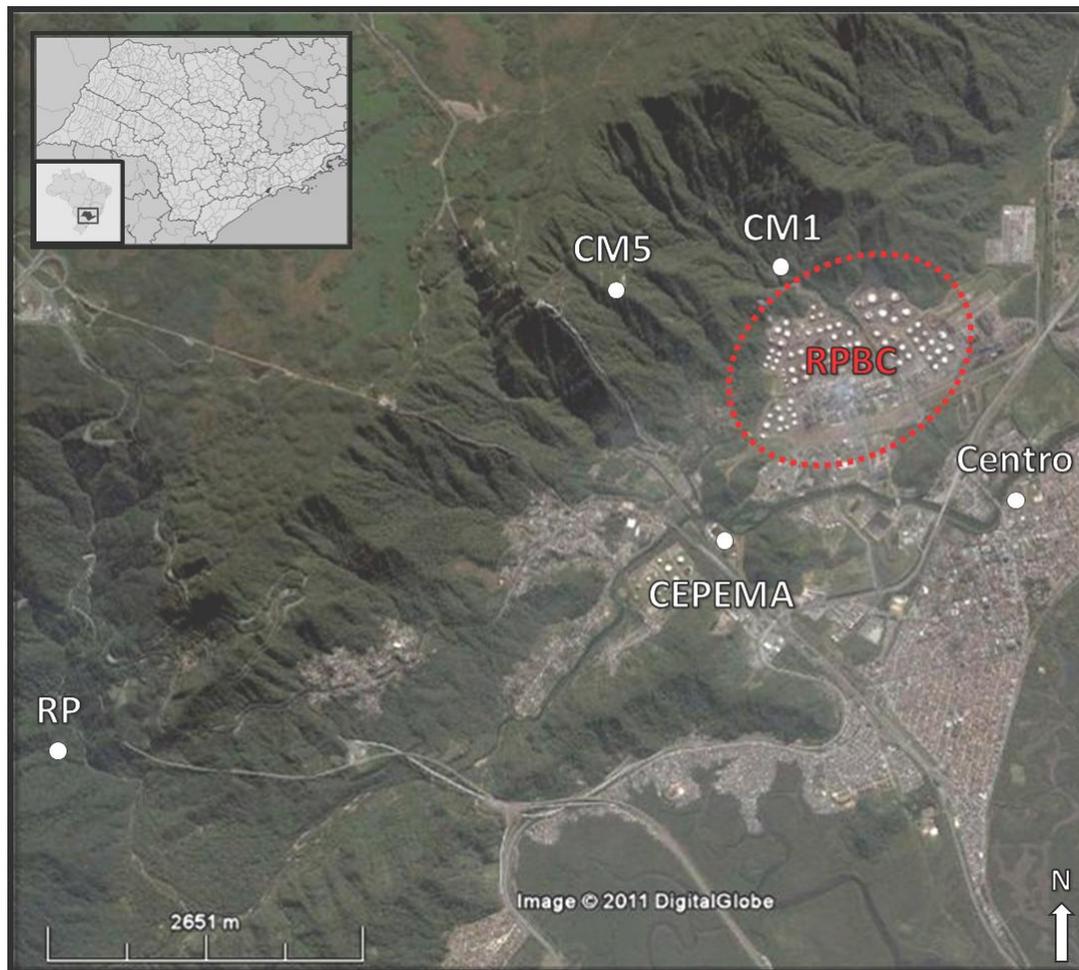
O município de Cubatão (23°45'-23°55'S e 46°21'-46°30'W) está localizado na planície litorânea do estado de São Paulo e dista cerca de 40 km da cidade de São Paulo e 12 km de Santos. Sua área abrange 142 km<sup>2</sup>, a qual está envolvida pelas encostas da Serra do Mar a norte, oeste e leste (CETESB 2011). Apresenta clima tropical super-úmido sem estiagem, com temperatura média anual de 23 °C e nebulosidade, umidade relativa e precipitação elevadas (2600 mm anuais) (Leitão Filho *et al.* 1993).

A cidade de Cubatão abriga indústrias químicas, petroquímicas, siderúrgicas e de fertilizantes, totalizando 110 unidades de produção e cerca de 230 fontes de emissão de poluentes aéreos. Como agravante, tem-se uma topografia acidentada influenciando o deslocamento das massas de ar associada a condições meteorológicas desfavoráveis à dispersão de poluentes. As correntes de ar vindas do oceano seguem em direção ao continente carregando os poluentes atmosféricos em direção à Serra do Mar e, de acordo com a topografia, são delimitadas duas bacias aéreas. A primeira bacia aérea é formada próxima às indústrias de fertilizantes, de cimento e outras indústrias químicas, enquanto a segunda bacia aérea encontra-se na região das indústrias petroquímicas (CETESB 2011).

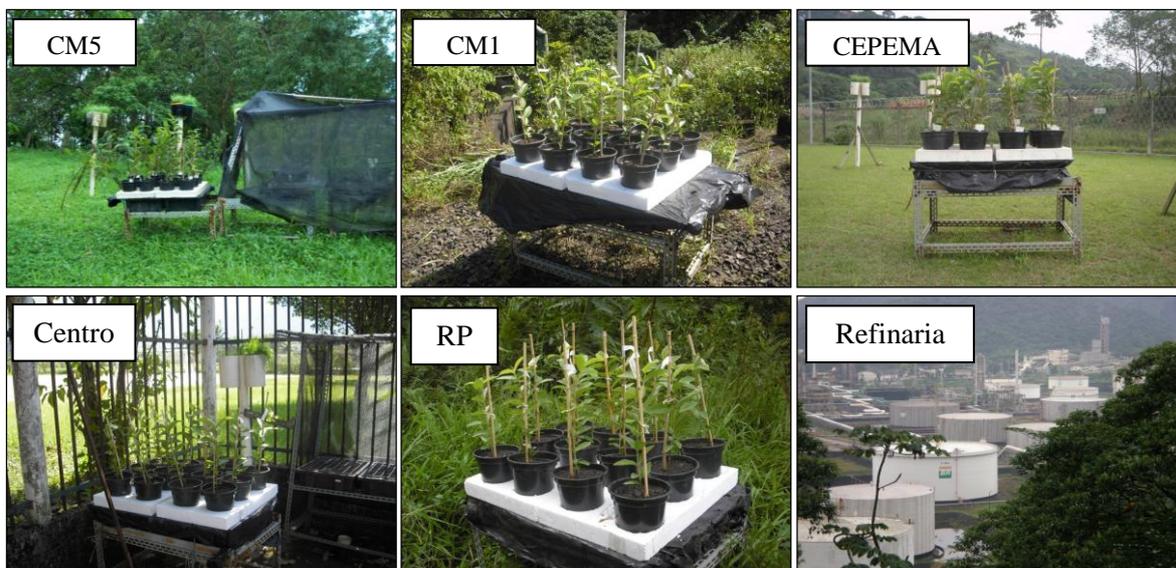
Deste modo, o perfil de contaminação atmosférica não é homogêneo em toda a região, variando de acordo com a distribuição das fontes de emissão e a circulação ou estagnação das correntes de ar que carregam os poluentes (CETESB 2011). O grau de impacto de poluentes sobre a vegetação é também variável de acordo com a área que ocupa, mas de modo geral a Floresta Atlântica nesta região é constituída por uma vegetação secundária com diversidade de espécies reduzida (Leitão Filho *et al.* 1993, Pompéia 1997).

A área de interesse deste estudo está restrita a regiões do entorno da Refinaria Presidente Bernardes de Cubatão, da Petrobrás, cuja contaminação atmosférica está caracterizada pela presença de dióxido de enxofre, óxidos de nitrogênio, hidrocarbonetos, monóxido de carbono e material particulado contaminado por metais (CETESB 2011). Nesta área foram definidos quatro pontos de exposição localizados na direção predominante dos ventos que carregam os poluentes, considerando a altitude e a proximidade com a refinaria e a inclusão de um local onde há monitoramento contínuo da qualidade do ar e de variáveis climáticas. O quinto ponto corresponde a uma área referência afastada das emissões industriais, onde estudos já realizados atestam a melhor qualidade do ar na região (Klumpp *et*

al. 1997, Jaeschke *et al.* 1997). A localização e as principais características de cada ponto estão expostos nas figuras 1 e 2 e na tabela 1.



**Figura 1.** Área de estudo indicando a localização dos pontos de exposição no entorno da refinaria (RPBC), em Cubatão, SP.



**Figura 2.** Indivíduos jovens de *P. guajava* 'Paluma' em exposição nas áreas de estudo e a Refinaria Presidente Bernardes.

**Tabela 1. Definição dos pontos de exposição no entorno da refinaria.**

Ponto	Localização	Detalhamento	Altitude (m)
CM1	Rodovia Caminho do Mar, situada na Serra do Mar (Área de vegetação)	Situado no início das encostas da serra, próximo da refinaria	60
CM5	Rodovia Caminho do Mar, situada na Serra do Mar (Área de vegetação)	Situado na subida da serra, em elevada altitude (calçada do Lorena)	450
CEPEMA	CEPEMA, a 300 m da refinaria (Área urbana)	Área pertencente à Universidade de São Paulo	60
Centro	CETESB/Centro de Cubatão (Área urbana)	Estação de monitoramento da qualidade do ar da CETESB	40
RP	Vale do Rio Pilões (Área de vegetação)	Área de floresta, região ao abrigo dos ventos e mais protegido da poluição. Área de referência.	40

### 3.2 Experimentos

Na área de estudo foram estabelecidos dois experimentos, os quais diferem principalmente pelo modo de exposição das plantas.

**Experimento em condições ambientais:** as plantas foram distribuídas nos cinco pontos definidos no entorno da refinaria (CM1, CM5, CEPEMA, Centro e RP). Nestas plantas foram realizadas medidas de crescimento, trocas gasosas e manifestação de injúrias foliares visíveis. Foram realizadas seis exposições:

- 1ª Exposição (Novembro/2009 a fevereiro/2010);
- 2ª Exposição (Fevereiro/2010 a maio/2010);
- 3ª Exposição (Maio/2010 a julho/2010);
- 4ª Exposição (Julho/2010 a outubro/2010);
- 5ª Exposição (Outubro/2010 a janeiro/2011);
- 6ª Exposição (Janeiro/2011 a abril de 2011).

**Experimento em câmaras de topo aberto:** as plantas foram expostas em condições semi controladas utilizando-se câmaras de topo aberto instaladas no ponto CEPEMA (Centro de Capacitação e Pesquisa em Meio Ambiente), sendo que duas câmaras receberam ar filtrado (AF) e outras duas receberam ar ambiente (AA). Nestas plantas foram realizadas medidas de crescimento, trocas gasosas, curva de resposta da fotossíntese à luz, curso diário da eficiência quântica potencial do fotossistema II (Fv/Fm), manifestação de injúrias foliares visíveis e acúmulo foliar de nitrogênio e enxofre. Foram realizadas três exposições:

- 1ª Exposição (Fevereiro/2011 a abril/2011);
- 2ª Exposição (Maio/2011 a agosto/2011);
- 3ª Exposição (Agosto/2011 a novembro/2011).

Em ambos os experimentos, as exposições tiveram duração de aproximadamente noventa dias, sendo as medidas realizadas a cada quatro semanas. Ao término de cada exposição as plantas foram substituídas por um novo lote.

### **3.3 Espécie, Cultivo e Exposição**

*Psidium guajava* L. (Myrtaceae) é uma espécie tropical, nativa da América Central e de ampla ocorrência em território nacional. A cultivar ‘Paluma’ é derivada das variedades Rubi e Supreme e foi desenvolvida pelo Professor Fernando Mendes Pereira da Universidade Estadual de São Paulo – UNESP, campus de Jaboticabal. Seus frutos são adequados para consumo *in natura* e para produção de polpa (ITAL 1988).

Plantas jovens de *Psidium guajava* L. (Myrtaceae), cultivar ‘Paluma’ foram adquiridas na produtora João Mateus e Outros, localizada no município de Taquaritinga, a qual realiza a propagação de mudas por meio da técnica de estaquia de ramos herbáceos.

Mudas com aproximadamente 30 cm de altura e 8 pares de folhas foram transplantadas em vasos plásticos de 3 L, com adição de substrato comercial Plantmax (Eucatex) e vermiculita fina, misturados na proporção de 3:1. Em seguida, foram encaminhadas para a casa de vegetação (Figura 3), onde permaneceram por aproximadamente um mês para a recuperação do transplante. Neste período as plantas receberam irrigação adequada e foram adubadas uma única vez com 100 mL de solução de Hoagland. Como cuidado fitossanitário, foi realizada a pulverização com acaricida (*Actara*<sup>®</sup>, 0,01g L<sup>-1</sup>) após o transplante das plantas. Antes de serem distribuídas entre os pontos de exposição, todas as

mudas receberam uma estaca tutor de bambu para auxiliar na sustentação e foram devidamente identificadas com plaquetas.



**Figura 3.** Casa de vegetação onde as plantas foram cultivadas, detalhes das plantas e da adubação.

O modelo de exposição das plantas (Figura 4) foi adaptado do proposto por Arndt & Schweizer (1991). Em um suporte metálico de 70 cm de altura foram colocadas duas caixas plásticas preenchidas com água, sobre as quais se posicionou uma grade de arame galvanizado coberta por um filme plástico escuro e uma placa de isopor com 5 cm de espessura. Os vasos foram colocados sobre a grade e encaixados nos orifícios da placa de isopor; isto garantiu maior sustentação e evitou a queda dos mesmos. Estes vasos possuíam cordas de náilon inseridas em sua base, de modo que uma das extremidades da corda ficava em contato com a água das caixas enquanto a outra estava em contato com o solo e as raízes da planta, garantindo assim uma irrigação contínua por capilaridade (VDI 2003). O filme plástico teve como finalidade a proteção do reservatório hídrico, evitando a evaporação da água e impedindo a proliferação tanto de algas como de larvas de vetores de doenças. O posicionamento dos suportes foi estabelecido com bússola a fim de padronizar o nível de insolação das plantas. Em cada suporte foram expostas 12 plantas.



**Figura 4.** Modelo de exposição das plantas no experimento em condições de campo.

Em câmaras de topo aberto, o modelo de exposição obedeceu aos mesmos critérios, no entanto foram necessárias algumas adaptações para melhor aproveitamento do espaço disponível. As caixas plásticas foram distribuídas no piso das câmaras, a grade e a placa de isopor foram substituídas por uma placa plástica com orifícios, onde os vasos foram posicionados de modo a manter o contato das cordas com a água (Figura 5).



**Figura 5.** Câmaras de topo aberto instaladas no CEPEMA e detalhes do modo de exposição.

### 3.4 Condições meteorológicas e qualidade do ar

Os valores médios de temperatura e umidade relativa do ar de cada ponto de exposição foram obtidos por meio de medidas descontínuas utilizando um termohigrômetro. Os dados pluviométricos foram fornecidos pela Empresa Metropolitana de Água e Energia (EMAE).

Os poluentes presentes na atmosfera de Cubatão foram continuamente monitorados pela estação de qualidade do ar da CETESB (Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental), localizada no centro de Cubatão. Foram obtidos os valores horários dos principais poluentes desta região, incluindo MP<sub>10</sub> (material particulado com diâmetro inferior a 10µm), SO<sub>2</sub> (dióxido de enxofre), NO (monóxido de nitrogênio), NO<sub>2</sub> (dióxido de nitrogênio) e O<sub>3</sub> (ozônio). A partir desses valores foram calculadas as concentrações médias e máximas diárias de cada período de exposição.

No interior das câmaras de topo aberto foram obtidos os valores médios e máximos de temperatura e umidade relativa do ar através de medidas descontínuas utilizando um termohigrômetro. Nestas câmaras também foram monitoradas as concentrações de ozônio e de óxidos de nitrogênio por meio de analisadores contínuos (APOA-360CE, HORIBA®) previamente calibrados e acoplados a computador (APNA-360E HORIBA®) para registro automático das medidas. A partir desses valores foram calculadas as concentrações médias desses poluentes em cada período de exposição.

### 3.5 Análise de trocas gasosas

Para a análise de trocas gasosas instantâneas foram escolhidas, aleatoriamente, seis plantas de cada ponto. Estão inclusas nesta análise medidas de assimilação de CO<sub>2</sub> sob radiação fotossinteticamente ativa saturante ( $A_{\text{sat}}$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), condutância estomática ( $g_s$ ,  $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) e transpiração ( $E$ ,  $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), obtidas com um analisador portátil de gases por infravermelho com fonte opcional de luz (LCPro+, ADC®, UK) (Figura 6). Os parâmetros analisados ( $A_{\text{sat}}$ ,  $g_s$ ,  $E$ ) foram determinados sob concentração de CO<sub>2</sub> e umidade ambiente e sob densidade de fluxo de fótons saturante ( $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), previamente determinada por meio de curva de resposta à luz.



**Figura 6.** Determinação das trocas gasosas com um analisador portátil de gases por infravermelho.

As medidas foram realizadas no período da manhã, entre 9 e 11 h, utilizando folhas com o limbo totalmente expandido, referentes ao 3º ou 4º nó a partir do ápice. Inicialmente, cada folha passava dois minutos em aclimatação às condições microclimáticas existentes dentro da câmara. Após este período foram tomadas seis medidas com intervalos de dez segundos entre elas, abrangendo uma área foliar de 6,25 cm<sup>2</sup>, equivalente ao tamanho da câmara do LCPro.

### **3.6 Curso diário do rendimento quântico potencial do fotossistema II (F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>)**

Foi determinado o curso diário da eficiência quântica potencial do fotossistema II (F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>) com um fluorômetro modulado (PAM 2500, Walz®, Germany) (Figura 7).

As medidas foram tomadas nas mesmas folhas em que foram determinadas as trocas gasosas, nas quais foi colocado um clipe para fazer a aclimatação ao escuro por 30 minutos. Posteriormente, a folha recebeu pulsos de luz saturante obtendo-se os sinais de fluorescência

mínima ( $F_0$ ) e máxima ( $F_m$ ) com os quais se determina os valores de fluorescência variável ( $F_v = F_m - F_0$ ) e se calcula a eficiência quântica potencial do fotossistema II ( $F_v/F_m$ ).

Foram realizadas seis repetições desta medida no decorrer no dia, obedecendo aos seguintes horários: 5:30h, 9:30h, 11:30h, 13:30h, 15:30h e 18:30h.



**Figura 7.** Determinação da razão  $F_v/F_m$  com um fluorômetro modulado.

### 3.7 Curva de resposta à luz

Foram realizadas curvas de taxa de assimilação líquida de carbono em resposta à densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos, com valores de 1800, 1300, 1100, 900, 600, 400, 200, 100, 75, 40 e 0  $\mu\text{mol}$  fótons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . As curvas foram realizadas no período da manhã, entre 9:00 e 11:00 h, em duas plantas de cada tratamento, com o analisador de gases por infravermelho já descrito, utilizando-se temperatura, umidade relativa do ar e concentração de  $\text{CO}_2$  ambiente. As curvas foram ajustadas com o modelo:

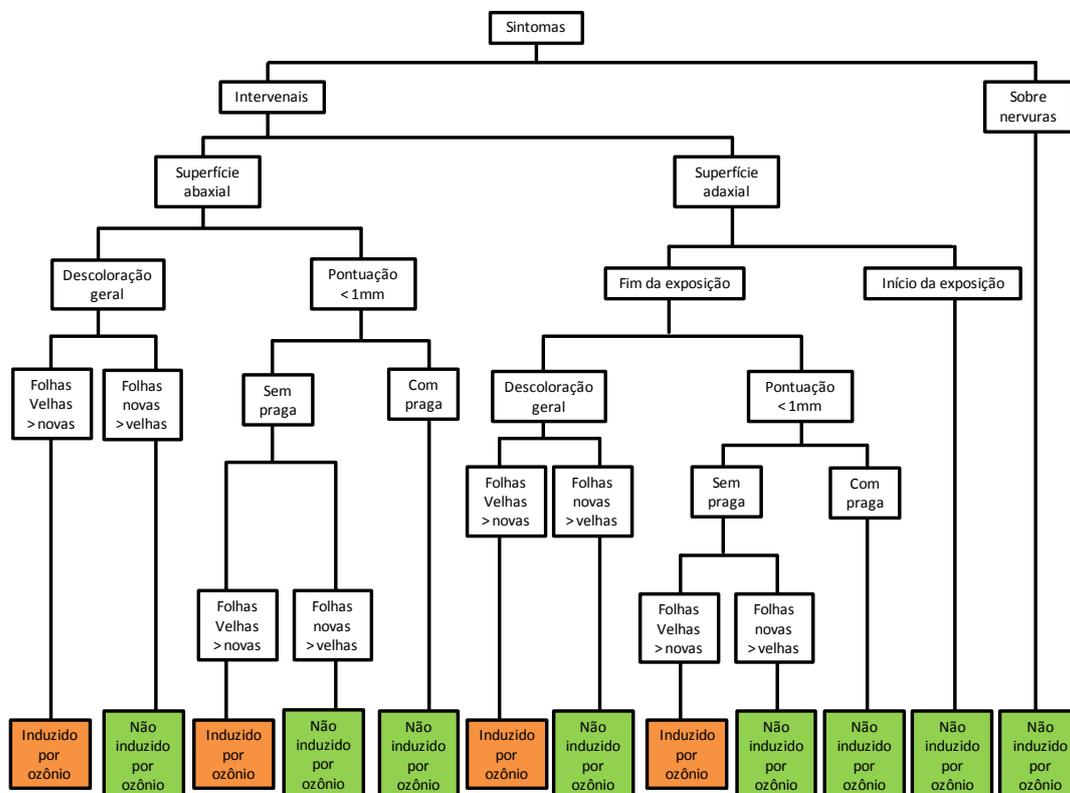
$$A = A_{\text{max}}[1 - e^{-k(\text{RFA} - I_0)}]$$

Onde  $A_{max}$  é a assimilação máxima de carbono, e  $k$  é a constante de Euler (2,72),  $k$  é a inclinação da reta, RFA é a radiação fotossinteticamente ativa e  $I_c$  é a irradiância de compensação ou ponto de compensação à luz (corresponde ao valor de RFA em que  $A$  é igual a  $0 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). Calculou-se a irradi\u00e2ncia de satura\u00e7\u00e3o,  $I_s$ , substituindo na equa\u00e7\u00e3o acima  $A$  por  $A_{max}.0,9$ . O rendimento qu\u00e2ntico aparente (RQA, n\u00famero de mol\u00e9culas de  $\text{CO}_2$  assimiladas por f\u00f3ton recebido) foi obtido com a equa\u00e7\u00e3o:  $\text{RQA} = A_{max}.k.e^{k.I_c}$ .

### 3.8 Inj\u00far\u00edas foliares vis\u00edveis

A avalia\u00e7\u00e3o das inj\u00far\u00edas foliares vis\u00edveis em *Psidium guajava* 'Paluma' foi realizada a cada quatro semanas em todas as plantas. Os crit\u00e9rios utilizados para classificar as inj\u00far\u00edas foliares como induzidos pelo oz\u00f4nio foram baseados na literatura de refer\u00eancia (Innes *et al.* 2001 *apud* Novak *et al.* 2003) e em estudos anteriores que analisaram a manifesta\u00e7\u00e3o de sintomas induzidos pelo oz\u00f4nio em 'Paluma' (Furlan *et al.* 2007, Pina & Moraes 2007, Pina 2010). Estes crit\u00e9rios s\u00e3o reunidos na chave dicot\u00f4mica apresentada na figura 8.

De modo geral, os sintomas se manifestam como pequenas pontua\u00e7\u00f5es vermelhas intervenais na superf\u00edcie adaxial, surgindo inicialmente nas folhas mais velhas (Sanz *et al.* 2002).



**Figura 8.** Chave dicot\u00f4mica para identifica\u00e7\u00e3o dos sintomas foliares vis\u00edveis induzidos por oz\u00f4nio em plantas sens\u00edveis (Innes *et al.* 2001 *apud* Novak *et al.* 2003, p.44).

Após o início da manifestação dos sintomas foliares, foram calculadas a incidência e a severidade dos mesmos. Segundo Chappelka *et al.* (1997), a incidência é o número de indivíduos com sintomas foliares em porcentagem do número total de indivíduos e severidade é o número de folhas com danos em porcentagem do número total de folhas de plantas que possuem danos. As porcentagens foram então agrupadas em intervalos de 1 – 5% (classe 1), 6 – 25% (classe 2), 26 – 50% (classe 3), 51 – 75% (classe 4) e 76 – 100% (classe 5). Com os dados das classes foi calculado o Índice de Injúria Foliar (IIF), adaptado de El-Khatib (2003) por Furlan *et al* (2007):

$$\text{IIF (\%)} = \frac{(N1 \times 1) + (N2 \times 2) + (N3 \times 3) + (N4 \times 4) + (N5 \times 5)}{(N0 + N1 + N2 + N3 + N4 + N5) \times 5} \times 100$$

Onde N1, N2, N3, N4 e N5 representam a quantidade de folhas com sintomas classificados respectivamente na classe 1, classe 2, classe 3, classe 4 e classe 5; e N0 é o número de folhas que não apresentam sintomas foliares visíveis induzidos por ozônio.

### 3.9 Medidas de crescimento

Foram realizadas medidas de crescimento inicial ( $t_i$ ) em todas as plantas, antes destas serem expostas na área de estudo. Estão inclusas as medidas de altura (do solo até a gema apical), diâmetro de caule na altura do colo, número de folhas e número de ramos. A cada quatro semanas estas medidas foram refeitas em todas as plantas, totalizando quatro medidas ao final de cada exposição ( $t_i, t_1, t_2, t_3$ ). Com os dados obtidos foram calculadas as médias de cada parâmetro.

As medidas de massa de matéria seca foram realizadas inicialmente em 12 plantas, as quais representaram a massa de matéria seca inicial ( $t_i$ ). Ao término de cada exposição, de aproximadamente 90 dias, foram realizadas as medidas de massa de matéria seca em todas as plantas que foram expostas ( $t_3$ ). Em laboratório, as plantas foram separadas em raiz, caule/ramos e folha e levadas para a estufa a cerca de 70 °C, onde permaneceram por no mínimo sete dias. A massa seca de cada fração foi determinada em balança de precisão. Com os dados obtidos foram calculadas as médias de massa seca de caule, raiz, folha e parte aérea, incluindo o cálculo da razão raiz/parte aérea (massa de matéria seca da raiz/massa de matéria seca da parte aérea).

Para cada parâmetro foi calculada Taxa de Crescimento Relativo:

$$\text{TCR} = [(Ln_2 - Ln_1) / t_2 - t_1]$$

Onde  $\ln_2$  e  $\ln_1$  = logaritmo natural do valor final – logaritmo valor inicial;  $t_2 - t_1$  = número de dias (Benincasa 2003).

### 3.10 Acúmulo de elementos

Ao final de cada período de exposição, após a obtenção do peso seco das folhas, estas foram moídas em moinho de bola de ágata para a análise de acúmulo foliar de nitrogênio e enxofre.

- Nitrogênio

Para determinação das concentrações de N, 0,27 g de amostra seca e moída foi digerida em uma mistura contendo 350 mL peróxido de hidrogênio 30%, 14 g de sulfato de lítio, 0,42 de selênio em pó e 420 mL de ácido sulfúrico e foram colocadas em blocos digestores até chegar a 350 °C (Zagatto *et al.* 1981). Após a digestão, a concentração de nitrogênio foi avaliada pelo método de Kjeldahl. Neste método, um erlenmeyer foi preparado contendo 10 mL de ácido bórico + 2 gotas de indicador (verde de branco cresal e vermelho de metila). Em um tubo contendo a amostra, previamente acoplado a um sistema de destilação, foi adicionado 15 mL de NaOH 18N. A amônia foi destilada até o volume do ácido bórico aumentar o dobro de seu volume inicial. O destilado foi titulado com HCl padronizado (0,05 N) e a concentração do N é determinada em  $\text{mg g}^{-1}$  (Bataglia *et al.* 1983).

- Enxofre

Para a determinação da concentração de enxofre, 0,5 g de amostra seca foi digerida em uma mistura contendo 6 mL de  $\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$  na proporção 2:1, em blocos digestores cuja temperatura foi aumentada gradativamente até atingir 160 °C permanecendo nesta até o volume ser reduzido à metade (cerca de 40 minutos). A seguir, aumentou-se a temperatura para 210 °C até ser obtida uma fumaça branca de  $\text{HClO}_4$  e o extrato apresentar-se incolor (cerca de 20 minutos). A amostra digerida foi avolumada a 50 mL com água ultra-pura. A determinação do enxofre foi realizada por meio de turbidimetria (Malavolta *et al.* 1997).

### 3.11 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do programa SigmaPlot 10.0 (SYSTAT Software Inc.®) e o nível de significância adotado nas análises foi de  $p \leq 0,05$ .

Foram realizadas comparações de valores entre os pontos amostrais (ou entre tratamentos, no caso das câmaras de topo aberto) numa mesma exposição e depois entre as exposições realizadas, e em alguns casos foram realizadas comparações entre as etapas de funcionamento da UTE.

Como nem sempre os resultados tinham distribuição normal, optou-se em padronizar a utilização de testes não-paramétricos. No experimento em condições ambientais quando a análise de variância não-paramétrica (teste de Kruskal-Wallis) identificava diferenças significativas estas foram discriminadas por teste de comparações múltiplas (Teste de Dunn's). Diferenças entre os tratamentos nas exposições em câmaras de topo aberto (CTA) foram apontadas pelo teste não paramétrico de dois grupos Rank Sum. Os valores utilizados nas análises não paramétricas são as medianas de cada conjunto de dados, desta forma, os valores referentes aos parâmetros bióticos deste estudo são apresentados em mediana.

Optou-se pela apresentação dos valores de trocas gasosas em gráficos do tipo box-plot, pois esse tipo de gráfico possibilita a melhor visualização do conjunto de dados. Nesse gráfico estatístico, a linha que divide o retângulo representa a mediana dos dados, as linhas horizontais, inferior e superior, indicam respectivamente, os 25° e 75° percentis e as barras verticais indicam os valores, mínimo e máximo. Essa apresentação possibilita representar a distribuição de um conjunto de dados com base na mediana, podendo-se avaliar a simetria dos dados, sua dispersão e a existência ou não de outliers.

Com o objetivo de identificar as principais tendências nas variações de respostas biológicas dos indivíduos jovens de *Psidium guajava* 'Paluma' expostos durante as mudanças no modo de obtenção de energia da RPBC no experimento em condições ambientais, foi empregada a ordenação das unidades amostrais por meio da Análise dos Componentes Principais (ACP).

### **3.12 Cronograma de alteração do sistema de energia da Refinaria Presidente Bernardes**

A tabela 2 apresenta o cronograma de alteração no sistema de geração de energia da Refinaria Presidente Bernardes associada com o andamento das exposições realizadas tanto no experimento em condições ambientais, como no experimento em câmaras de topo aberto.

Na 1ª etapa, a energia foi gerada por duas caldeiras de alta pressão (óleo + gás) e duas caldeiras de média pressão (óleo), ou seja, um sistema baseado na queima de óleo combustível. Na 2ª etapa, a Usina Termoelétrica (UTE) foi ativada, iniciando a geração de energia por gás natural. A partir desta 2ª etapa, as caldeiras foram sendo desligadas

gradativamente e, no final do experimento, toda a energia provinha da UTE e de apenas uma caldeira de alta pressão (óleo + gás).

**Tabela 2.** Cronograma das alterações no sistema de geração de energia da Refinaria Presidente Bernardes. UTE: Usina Termoelétrica.

	Alterações no sistema de geração de energia da refinaria	Período	Experimentos	
			Campo	Câmaras
1ª Etapa	<ul style="list-style-type: none"> <li>• UTE desligada</li> <li>• 2 caldeiras de alta pressão (Óleo + gás)</li> <li>• 2 caldeiras de média pressão (Óleo)</li> </ul>	Novembro/2009 a abril/2010	1ª Exposição 2ª Exposição	-
2ª Etapa*	<ul style="list-style-type: none"> <li>• UTE ligada</li> <li>• 2 caldeiras de alta pressão (Óleo + gás)</li> <li>• 1 caldeira de média pressão (Óleo)</li> </ul>	Maio/2010 a junho/2010	3ª Exposição	-
3ª Etapa	<ul style="list-style-type: none"> <li>• UTE ligada</li> <li>• 1 caldeira de alta pressão (Óleo + gás)</li> <li>• 1 caldeira de média pressão (Óleo)</li> </ul>	Junho/2010 a setembro/2011	3ª Exposição 4ª Exposição 5ª Exposição 6ª Exposição	1ª Exposição 2ª Exposição
4ª Etapa	<ul style="list-style-type: none"> <li>• UTE ligada</li> <li>• 1 caldeira de alta pressão (Óleo + gás)</li> </ul>	Setembro./2011 a novembro/2011	-	3ª Exposição

Fonte: Técnicos operacionais da UTE/RPBC – Petrobrás, em janeiro de 2012.

- Não foram realizadas exposições neste período.

\* Período de transição.

Em alguns parâmetros os resultados obtidos foram agrupados de acordo com as etapas da refinaria a fim de avaliar o padrão das respostas obtidas pelas plantas com relação à alteração do combustível. No entanto, é importante ressaltar que os resultados obtidos na 2ª etapa não foram considerados separadamente, estes dados foram agrupados e avaliados com os dados obtidos na 1ª etapa.

## 4. Resultados

### 4.1 Experimento em condições ambientais

#### 4.1.1 Condições meteorológicas e qualidade do ar

As exposições realizadas abrangeram todas as estações do ano, deste modo, as menores temperaturas foram registradas naquelas que corresponderam ao período de inverno, ou seja, 3ª e 4ª exposições. Durante as demais, a temperatura variou pouco. A umidade relativa do ar manteve-se elevada ao longo de todas as exposições (Tabela 3).

A precipitação pluviométrica não apresentou uma distribuição homogênea durante todo o período de estudo (Tabela 3). Comparando todas as exposições, os períodos que incluem meses de inverno, 3ª e 4ª exposição, apresentaram menor precipitação.

Com base em medições descontínuas realizadas nos locais de estudo, verificou-se que CM1, CM5 e RP apresentam temperatura mais amena e maior umidade relativa do ar. Nos demais locais, CEPEMA e Centro, a temperatura foi mais alta e a umidade relativa do ar mais baixa (Tabela 4).

**Tabela 3.** Média das médias, máximas e mínimas diárias de temperatura (T, graus Celsius) e umidade relativa do ar (UR, %) e precipitação acumulada (mm) obtidas nos períodos de novembro/2009 a fevereiro/2010 (1ª exposição), fevereiro/2010 a maio/2010 (2ª exposição), maio/2010 a julho/2010 (3ª exposição), julho/2010 a outubro/ 2010 (4ª exposição), outubro/2010 a janeiro/2011 (5ª exposição) e janeiro/2011 a abril/2011 (6ª exposição) no município de Cubatão/SP\*.

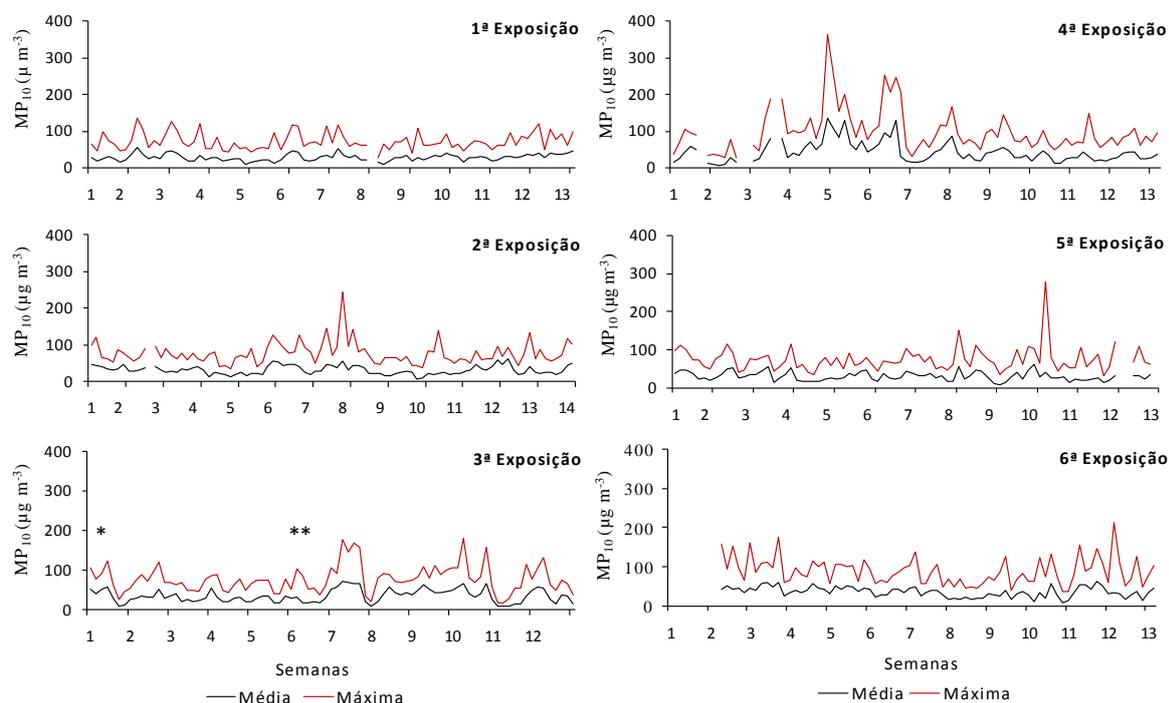
	1ª Exp.	2ª Exp.	3ª Exp.	4ª Exp.	5ª Exp.	6ª Exp.
Média das médias	26,4	25,2	20,8	19,8	24,8	25,8
T °C						
Média das máximas	31,0	29,9	25,4	24,4	28,3	29,8
Média das mínimas	23,1	21,7	17,3	16,2	22,0	23,0
Média das médias	86,8	85,7	86,0	87,8	92,6	91,1
UR%						
Média das máximas	98,4	97,9	98,7	99,4	100,0	99,2
Média das mínimas	68,4	66,4	66,7	68,7	76,3	74,0
Precipitação acumulada (mm)	1142	944	485	470	1052	1309

\*Fonte: Estação Meteorológica da Usina Henry Borden

**Tabela 4.** Médias de temperatura (T, graus Celsius) e umidade relativa do ar (UR, %), nas áreas de estudo no entorno da RPBC.

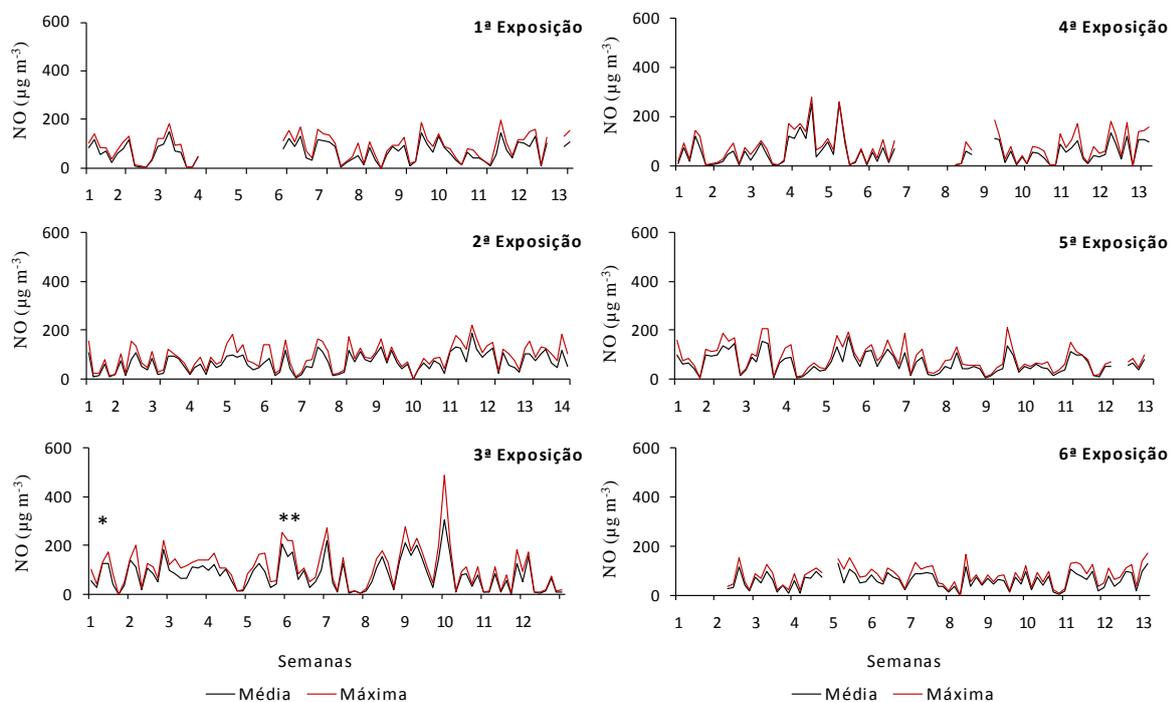
	CM1	CM5	CEPEMA	Centro	RP
T °C	26	25	30	30	27
UR %	73	74	62	65	72

Com relação à qualidade do ar, no período de estudo, a menor concentração máxima diária de material particulado foi obtida na 1ª exposição, 137  $\mu\text{g m}^{-3}$ , (Figura 9, tabela 5) período em que a UTE ainda não estava em funcionamento, o que corresponde à 1ª etapa do cronograma da refinaria. Após a sua ativação, concentrações máximas elevadas tornaram-se frequentes em todas as exposições. A maior concentração máxima diária de material particulado ocorreu, na 4ª exposição, a qual abrangeu períodos de inverno e corresponde à 3ª etapa do cronograma da refinaria, atingindo o valor de 363  $\mu\text{g m}^{-3}$ . Um aumento efetivo da concentração média deste poluente ocorreu apenas na 6ª exposição (Figura 9, tabela 5).



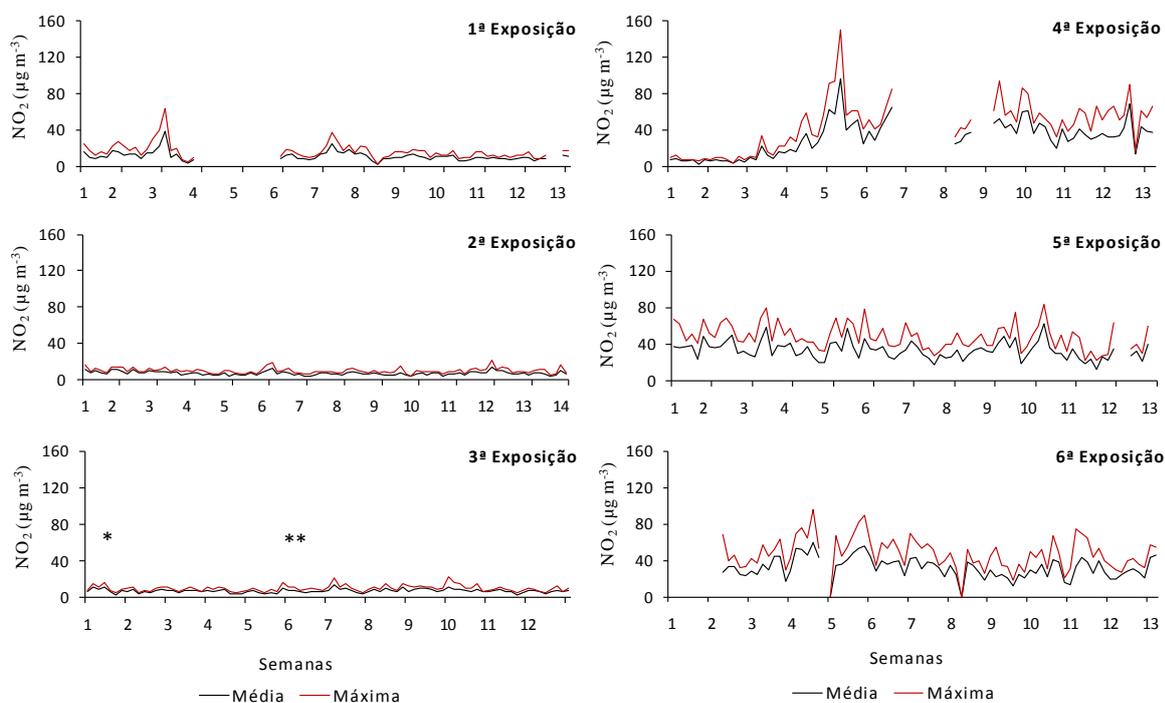
**Figura 9.** Variação das concentrações médias e máximas diárias de material particulado ( $\text{MP}_{10}$ ,  $\mu\text{g m}^{-3}$ ) no centro de Cubatão/SP, nos meses de novembro/2009 a fevereiro/2010 (1ª exposição), fevereiro/2010 a maio/2010 (2ª exposição), maio/2010 a julho/2010 (3ª exposição), julho/2010 a outubro/ 2010 (4ª exposição), outubro/2010 a janeiro/2011 (5ª exposição) e janeiro/2011 a abril/2011 (6ª exposição). \*Início da 2ª etapa do cronograma da refinaria; \*\*Início da 3ª etapa do cronograma da refinaria.

No inverno também houve o aumento de monóxido de nitrogênio, com valores máximos diários elevados na 3ª (486  $\mu\text{g m}^{-3}$ ) e 4ª exposições (278  $\mu\text{g m}^{-3}$ ), período que abrangeu o início da 3ª etapa do cronograma da refinaria. Uma redução nas máximas diárias foi constatada na 6ª exposição, 173  $\mu\text{g m}^{-3}$ . No entanto, não houve diferenças significativas na concentração média deste poluente entre as exposições (Figura 10, tabela 5).



**Figura 10.** Variação das concentrações médias e máximas de monóxido de nitrogênio ( $\text{NO}$ ,  $\mu\text{g m}^{-3}$ ) no centro de Cubatão/SP, durante o período das 7:00 h às 9:00 h, nos meses de novembro/2009 a fevereiro/2010 (1ª exposição), fevereiro/2010 a maio/2010 (2ª exposição), maio/2010 a julho/2010 (3ª exposição), julho/2010 a outubro/2010 (4ª exposição), outubro/2010 a janeiro/2011 (5ª exposição) e janeiro/2011 a abril/2011 (6ª exposição). \*Início da 2ª etapa do cronograma da refinaria; \*\*Início da 3ª etapa do cronograma da refinaria.

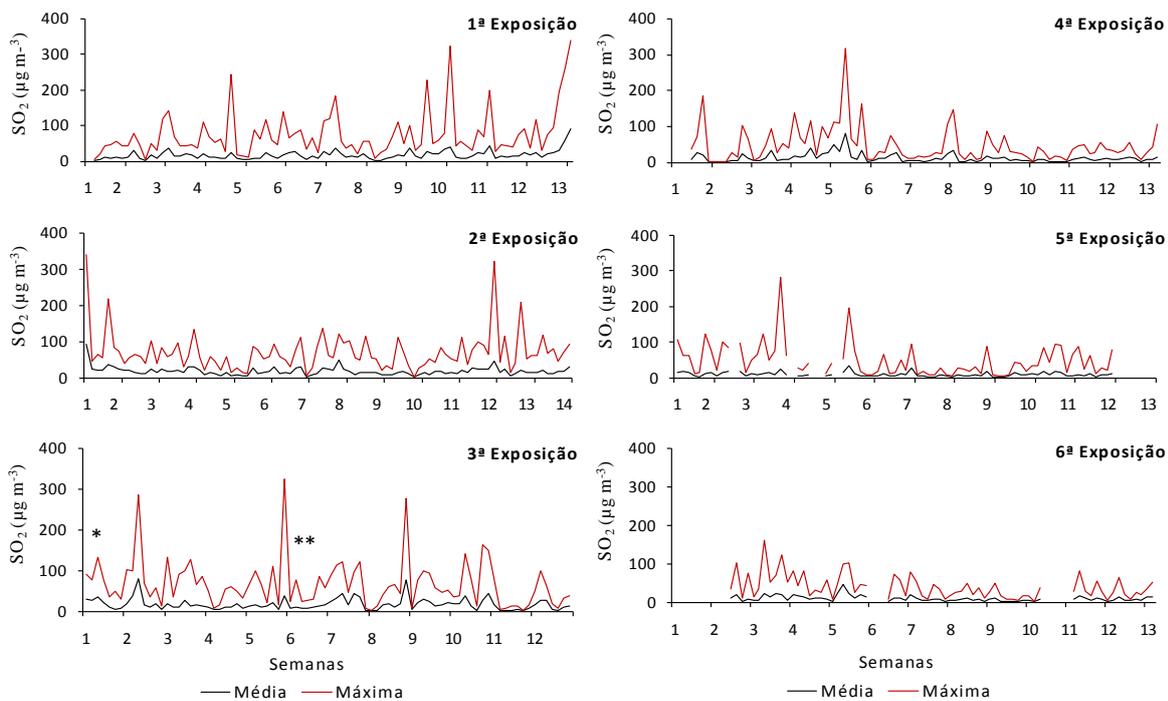
O poluente dióxido de nitrogênio exibiu dois padrões de concentração bem definidos (Figura 11, tabela 5), apresentando valores médios e máximos diários inferiores nas três primeiras exposições, com máximas horárias entre 25  $\mu\text{g m}^{-3}$  e 64  $\mu\text{g m}^{-3}$ , período que correspondeu principalmente à 1ª etapa do cronograma de mudanças da refinaria. Nas outras três exposições, verificou-se um novo padrão com valores superiores, apresentando máxima diária de 189  $\mu\text{g m}^{-3}$  na 4ª exposição, a qual abrangeu o final da estação de inverno e coincidiu com a 3ª etapa do cronograma da refinaria (Figura 11, tabela 5). As médias das concentrações máximas também apresentaram grande aumento, correspondendo de 2 a 4 vezes os valores obtidos nas três exposições anteriores.



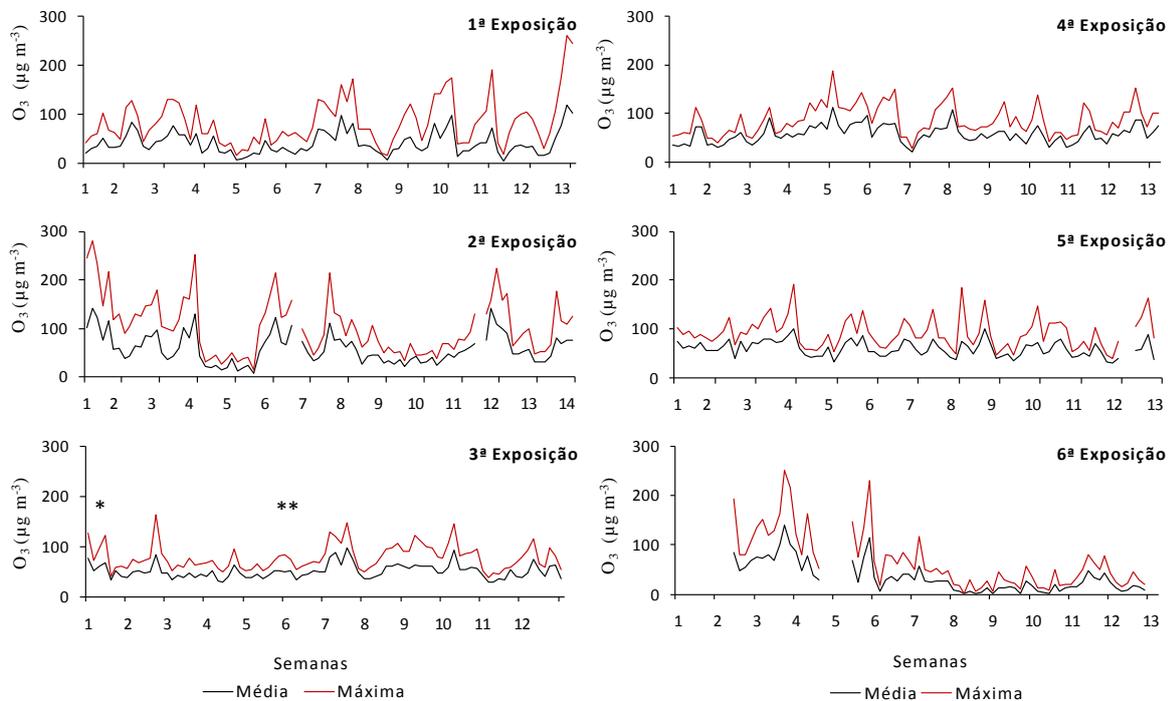
**Figura 11.** Variação das concentrações médias e máximas de dióxido de nitrogênio ( $\text{NO}_2$ ,  $\mu\text{g m}^{-3}$ ) no centro de Cubatão/SP, durante o período das 7:00 h às 12:00 h, nos meses de novembro/2009 a fevereiro/2010 (1ª exposição), fevereiro/2010 a maio/2010 (2ª exposição), maio/2010 a julho/2010 (3ª exposição), julho/2010 a outubro/2010 (4ª exposição), outubro/2010 a janeiro/2011 (5ª exposição) e janeiro/2011 a abril/2011 (6ª exposição). \*Início da 2ª etapa do cronograma da refinaria; \*\*Início da 3ª etapa do cronograma da refinaria.

As concentrações de dióxido de enxofre apresentaram um mesmo padrão nas três primeiras exposições, com valores médios diários variando entre  $17 \mu\text{g m}^{-3}$  e  $18 \mu\text{g m}^{-3}$ , período que incluiu principalmente a 1ª etapa do cronograma da refinaria (Figura 12, tabela 5). A concentração máxima diária mais elevada atingiu o valor de  $339 \mu\text{g m}^{-3}$  nas duas primeiras exposições. Nas três últimas exposições, as quais correspondem à 3ª etapa do cronograma da refinaria, ocorreu uma redução nos valores médios diários, variando entre  $9 \mu\text{g m}^{-3}$  e  $12 \mu\text{g m}^{-3}$ , no entanto, a redução das concentrações máximas diárias ficou evidente na última exposição, cujo valor máximo obtido foi de  $160 \mu\text{g m}^{-3}$  (Figura 12, tabela 5).

As concentrações máximas diárias de ozônio mais elevadas foram obtidas nas exposições que abrangeram os meses de verão, ou seja, na 1ª, 2ª e 6ª exposições (Figura 13, tabela 5). A redução dos valores máximos diários ocorreu nos meses de inverno incluindo também a 5ª exposição, período em que o valor máximo foi  $164 \mu\text{g m}^{-3}$ . As concentrações médias foram mais baixas na 1ª e 6ª exposições (Figura 13, tabela 5).



**Figura 12.** Variação das concentrações médias e máximas de dióxido de enxofre ( $\text{SO}_2$ ,  $\mu\text{g m}^{-3}$ ) no centro de Cubatão/SP, durante períodos de 24 h, nos meses de novembro/2009 a fevereiro/2010 (1ª exposição), fevereiro/2010 a maio/2010 (2ª exposição), maio/2010 a julho/2010 (3ª exposição), julho/2010 a outubro/2010 (4ª exposição), outubro/2010 a janeiro/2011 (5ª exposição) e janeiro/2011 a abril/2011 (6ª exposição). \*Início da 2ª etapa do cronograma da refinaria; \*\*Início da 3ª etapa do cronograma da refinaria.



**Figura 13.** Variação das concentrações médias e máximas de ozônio ( $\text{O}_3$ ,  $\mu\text{g m}^{-3}$ ) no centro de Cubatão/SP, durante o período das 7:00 h às 18:00 h (verão) e 7:00 h às 17:00 h (inverno), nos meses de novembro/2009 a fevereiro/2010 (1ª exposição), fevereiro/2010 a maio/2010 (2ª exposição), maio/2010 a julho/2010 (3ª exposição), julho/2010 a outubro/2010 (4ª exposição), outubro/2010 a janeiro/2011 (5ª exposição) e janeiro/2011 a abril/2011 (6ª exposição). \*Início da 2ª etapa do cronograma da refinaria; \*\*Início da 3ª etapa do cronograma da refinaria.

**Tabela 5.** Concentração média e máxima, em  $\mu\text{g m}^{-3}$ , de  $\text{MP}_{10}$  (Material particulado), NO (Monóxido de nitrogênio),  $\text{NO}_2$  (Dióxido de nitrogênio),  $\text{SO}_2$  (Dióxido de enxofre) e  $\text{O}_3$  (Ozônio), verificadas no centro da cidade de Cubatão/SP, no período de novembro/2009 a fevereiro/2010 (1ª exposição), fevereiro/2010 a maio/2010 (2ª exposição), maio/2010 a julho/2010 (3ª exposição), julho/2010 a outubro/2010 (4ª exposição), outubro/2010 a janeiro/2011 (5ª exposição) e janeiro/2011 a abril/2011 (6ª exposição). Letras minúsculas indicam diferenças significativas entre as exposições.

		$\text{MP}_{10}$ $\mu\text{g m}^{-3}$	NO $\mu\text{g m}^{-3}$	$\text{NO}_2$ $\mu\text{g m}^{-3}$	$\text{SO}_2$ $\mu\text{g m}^{-3}$	$\text{O}_3$ $\mu\text{g m}^{-3}$
1ª	Média	29 b	27 a	10 b	18 a	28 b
Exp.	Máxima	137	198	64	339	262
2ª	Média	31 ab	31 a	7 c	18 a	39 a
Exp.	Máxima	245	221	30	339	279
3ª	Média	32 ab	42 a	7 c	17 a	37 a
Exp.	Máxima	178	486	25	326	164
4ª	Média	43 ab	30 a	31 a	12 b	45 a
Exp.	Máxima	363	344	189	319	189
5ª	Média	31 ab	25 a	30 a	10 b	48 a
Exp.	Máxima	279	211	126	281	191
6ª	Média	36 a	27 a	31 a	10 b	24 b
Exp.	Máxima	213	173	133	160	251

De acordo com as etapas do cronograma da refinaria, pode-se observar que ocorreram alterações nas concentrações de alguns poluentes (Tabela 6). Quanto ao  $\text{MP}_{10}$  nota-se que houve um aumento da sua concentração média na 3ª etapa, o qual não foi significativo, no entanto a máxima mais elevada ocorreu nesta etapa. O maior valor quanto à concentração média de NO ocorreu na 2ª etapa, as outras etapas apresentaram valores semelhantes, porém a máxima mais elevada ocorreu na 3ª etapa. O  $\text{SO}_2$  apresentou uma redução significativa em suas concentrações na 3ª etapa. O inverso ocorreu com o  $\text{NO}_2$ , o qual apresentou um aumento significativo na 3ª etapa, atingido a maior máxima também neste período. O poluente  $\text{O}_3$  também apresentou um aumento significativo em sua concentração média na 3ª etapa, porém alcançou a maior máxima e o maior número de ultrapassagens na 1ª etapa.

**Tabela 6.** Concentração média e máxima, em  $\mu\text{g m}^{-3}$ , e ultrapassagens do Padrão de Qualidade do Ar de  $\text{MP}_{10}$  (Material particulado), NO (Monóxido de nitrogênio),  $\text{NO}_2$  (Dióxido de nitrogênio),  $\text{SO}_2$  (Dióxido de enxofre) e  $\text{O}_3$  (Ozônio), verificadas no centro da cidade de Cubatão/SP, no período de novembro/2009 a abril/2010 (1ª Etapa: UTE desligada), maio/2010 a junho/2010 (2ª Etapa: início do funcionamento da UTE + 3 caldeiras) e junho/2010 a abril/2011 (3ª Etapa: UTE + 2 caldeiras). Letras minúsculas indicam diferenças significativas entre as etapas.

		1ª Exp.	2ª Exp.	3ª Exp.	3ª Exp. 4ª Exp. 5ª Exp. 6ª Exp.
		1ª Etapa		2ª Etapa	3ª Etapa
$\text{MP}_{10}$	Média	30 a		30 a	37 a
	Máxima	245		122	363
	Ultrapassagens	-		-	-
NO	Média	67 b		86 a	63 b
	Máxima	221		253	486
	Ultrapassagens	*		*	*
$\text{NO}_2$	Média	9 b		7 b	28 a
	Máxima	64		17	150
	Ultrapassagens	-		-	-
$\text{SO}_2$	Média	18 a		17 a	12 b
	Máxima	339		326	319
	Ultrapassagens	-		-	-
$\text{O}_3$	Média	50 b		47 b	52 a
	Máxima	279		164	251
	Ultrapassagens	55		1	26

\*O poluente NO não possui PQAr.

#### 4.1.2 Trocas gasosas

Durante o período de estudo, observou-se a ocorrência de variações significativas nos parâmetros de trocas gasosas medidos nas plantas expostas nos diferentes pontos.

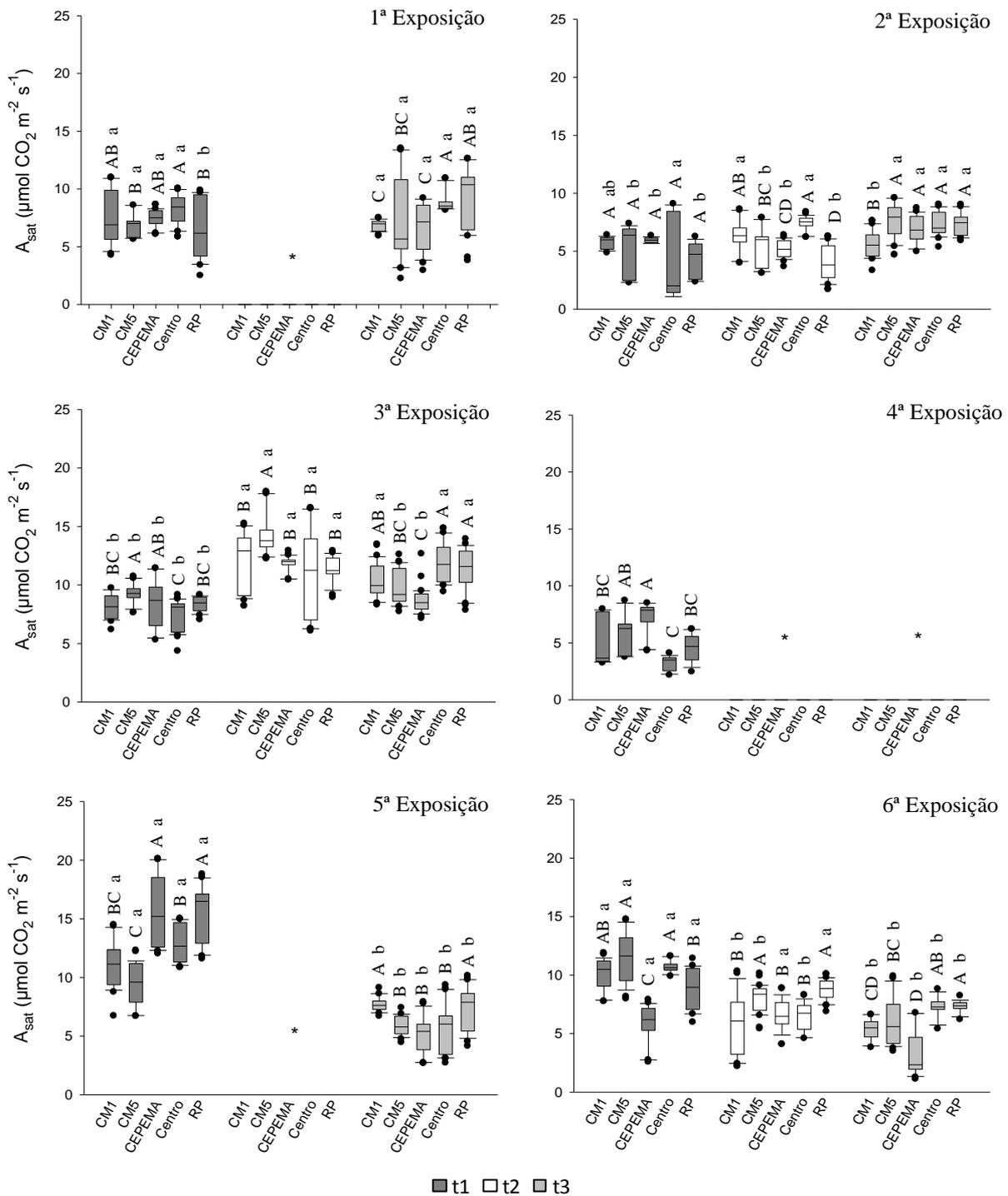
De modo geral, considerando todas as 14 medidas realizadas, as plantas expostas no CEPEMA apresentaram Asat mais baixa mais vezes (64%), quando comparadas com a Asat obtidas pelas plantas do RP e Centro (que foram mais altas em 8 das 14 medidas – 57% de valores altos). Asat das plantas que permaneceram expostas no CM1 e CM5 apresentaram a mesma proporção de valores maiores e menores (Figura 14).

Nas três primeiras exposições verificou-se que na última medida as plantas apresentaram maior assimilação de carbono, o que não foi observado apenas para as plantas do CM1, na 2ª exposição, e para as plantas do CM5 e CEPEMA na 3ª exposição. O contrário foi obtido na 5ª e 6ª exposições, em que nas últimas medidas as plantas apresentaram menor

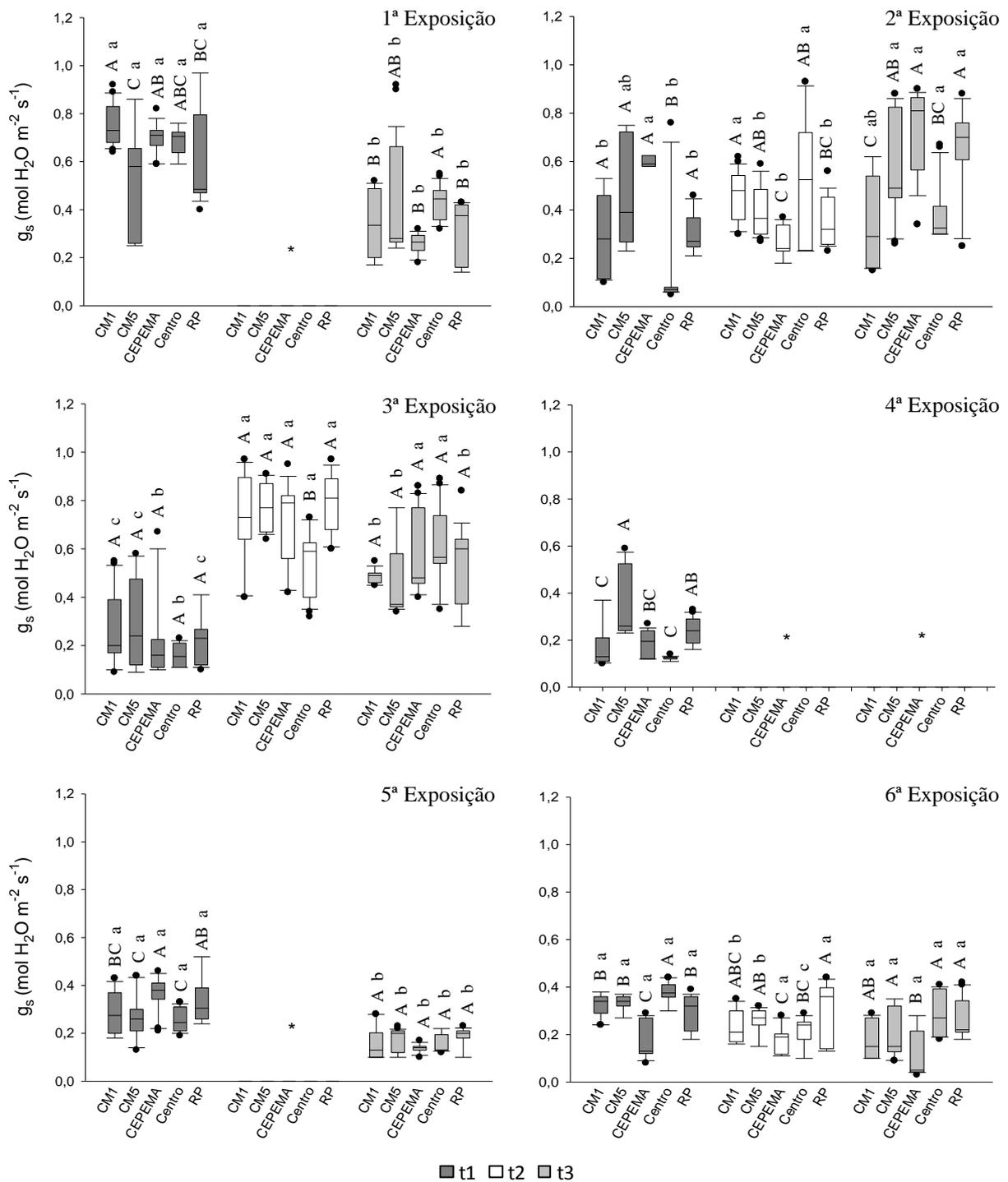
Asat, sem exceções. Considerando apenas estas últimas medidas, (t3) as plantas expostas em RP apresentaram Asat mais alta e as plantas expostas no Centro mostraram redução apenas na 5ª exposição. Já as plantas expostas no CM1, CM5 e CEPEMA apresentaram menor Asat, exceto aquelas do CM1 na 4ª e 5ª exposições e as do CM5 e CEPEMA na 2ª exposição (Figura 14).

Os resultados obtidos de condutância estomática evidenciaram uma grande variação entre áreas, períodos e até mesmo em uma mesma área e período, como se observa pela extensão dos Box-plots apresentados na figura 15, principalmente nas três primeiras exposições. Entre os períodos de uma mesma exposição, pode-se observar que na 1ª e 5ª exposições, as plantas apresentaram uma redução de gs em t3 com relação ao t1. Considerando-se todos os períodos de exposição, observou-se que os valores mais elevados de condutância estomática ocorreram nas três primeiras exposições, os quais apresentaram redução na 5ª e 6ª exposições (Figura 15).

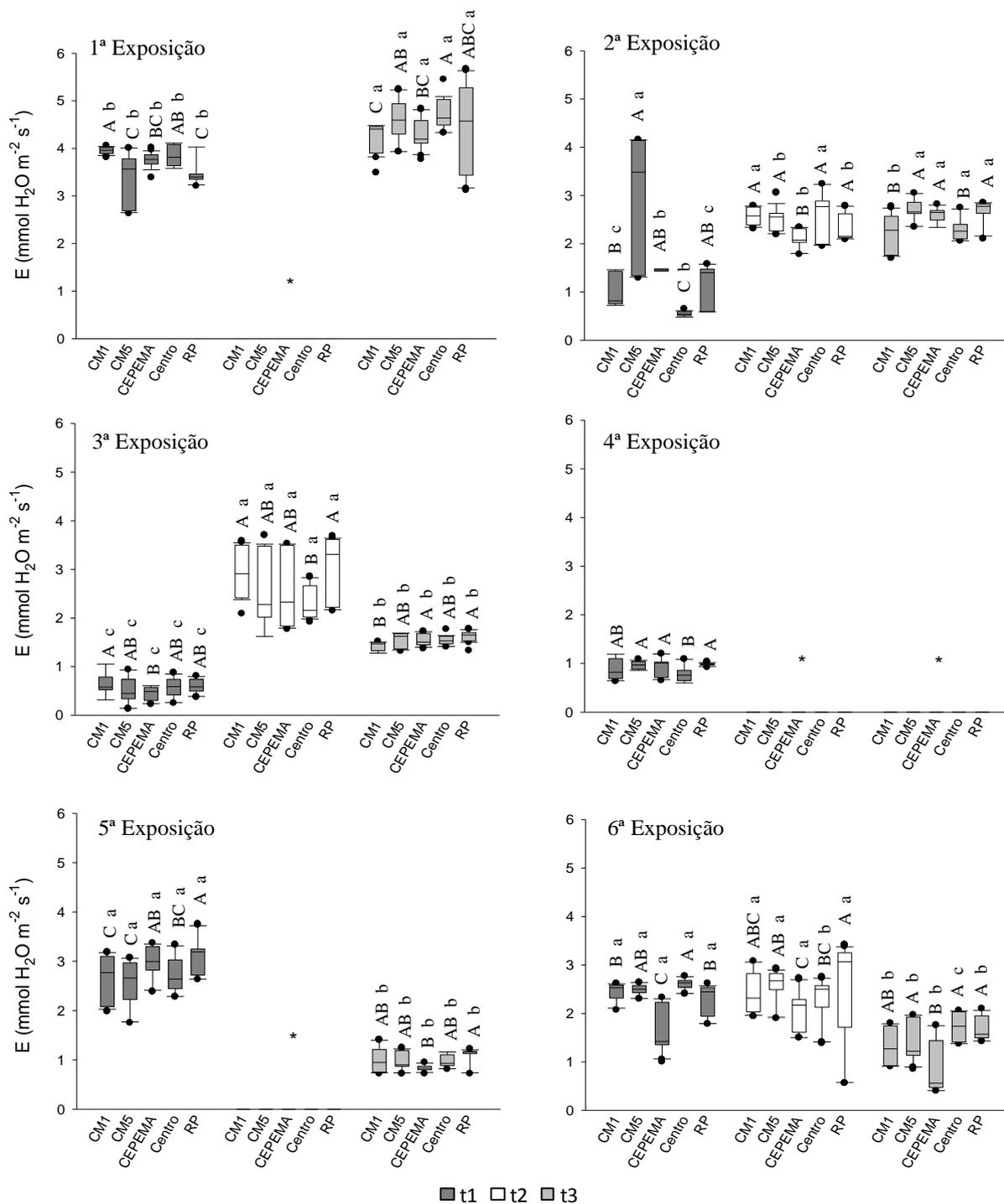
Quanto à transpiração (Figura 16), também não houve uma tendência nítida, apesar de apresentar menor variação do que a condutância estomática, salvo algumas exceções, como plantas do RP que mantiveram os maiores valores em t3, enquanto as plantas dos demais pontos apresentaram valores variados. Nas três primeiras exposições verificou-se que na última medida (t3) as plantas apresentaram maior transpiração, exceto as plantas do CM1, na 2ª exposição. O inverso ocorreu na 5ª e 6ª exposições, quando, nas últimas medidas, as plantas apresentaram menores valores, sem exceções (Figura 16).



**Figura 14.** Assimilação líquida de  $\text{CO}_2$  sob radiação fotossinteticamente ativa saturante ( $A_{sat}$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), em indivíduos jovens de *Psidium guajava* ‘Paluma’,  $n = 6$ , expostos nos meses de novembro/2009 a fevereiro/2010 (1ª exposição), fevereiro/2010 a maio/2010 (2ª exposição), maio/2010 a julho/2010 (3ª exposição), julho/2010 a outubro/2010 (4ª exposição), outubro/2010 a janeiro/2011 (5ª exposição) e janeiro/2011 a abril/2011 (6ª exposição) nas áreas de estudo no entorno da refinaria, em Cubatão/SP. (t1- 4ª semana; t2 – 8ª semana; t3 – 12ª semana). Letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre os pontos de exposição. Letras minúsculas indicam diferenças significativas de um mesmo ponto em períodos distintos de uma mesma exposição (t1, t2 e t3). \*Não determinado.

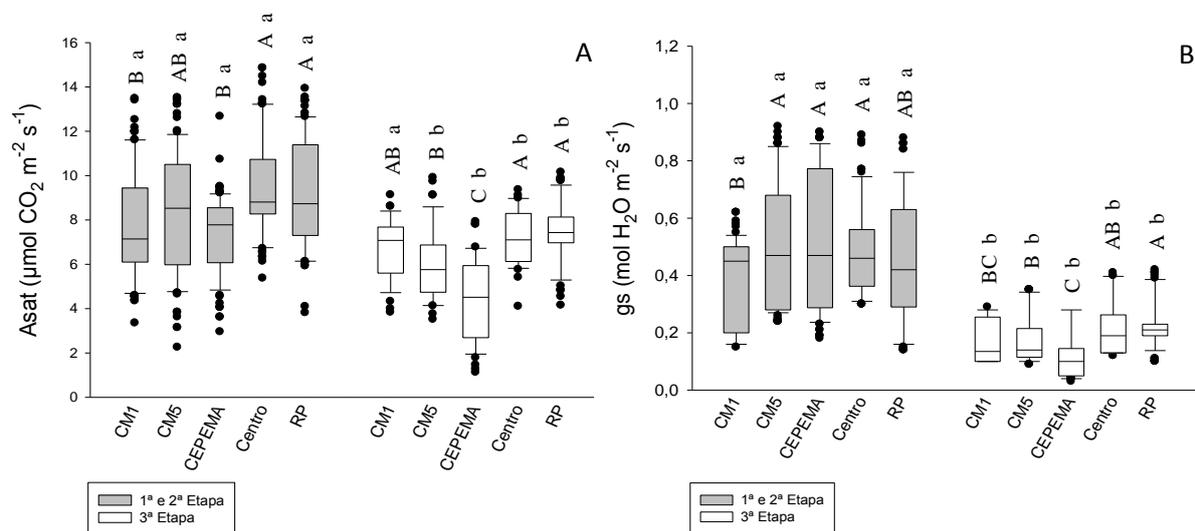


**Figura 15.** Condutância estomática ( $g_s$ ,  $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), em indivíduos jovens de *Psidium guajava* ‘Paluma’,  $n = 6$ , expostos nos meses de novembro/2009 a fevereiro/2010 (1ª exposição), fevereiro/2010 a maio/2010 (2ª exposição), maio/2010 a julho/2010 (3ª exposição), julho/2010 a outubro/2010 (4ª exposição), outubro/2010 a janeiro/2011 (5ª exposição) e janeiro/2011 a abril/2011 (6ª exposição) nas áreas de estudo no entorno da refinaria, em Cubatão/SP. (t1- 4ª semana; t2 – 8ª semana; t3 – 12ª semana). Letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre os pontos de exposição. Letras minúsculas indicam diferenças significativas de um mesmo ponto em períodos distintos de uma mesma exposição (t1, t2 e t3). \*Não determinado.



**Figura 16.** Transpiração ( $E$ ,  $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), em indivíduos jovens de *Psidium guajava* ‘Paluma’,  $n = 6$ , expostos nos meses de novembro/2009 a fevereiro/2010 (1ª exposição), fevereiro/2010 a maio/2010 (2ª exposição), maio/2010 a julho/2010 (3ª exposição), julho/2010 a outubro/2010 (4ª exposição), outubro/2010 a janeiro/2011 (5ª exposição) e janeiro/2011 a abril/2011 (6ª exposição) nas áreas de estudo no entorno da refinaria, em Cubatão/SP. (t1- 4ª semana; t2 – 8ª semana; t3 – 12ª semana). Letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre os pontos de exposição. Letras minúsculas indicam diferenças significativas de um mesmo ponto em períodos distintos de uma mesma exposição (t1, t2 e t3). \*Não determinado.

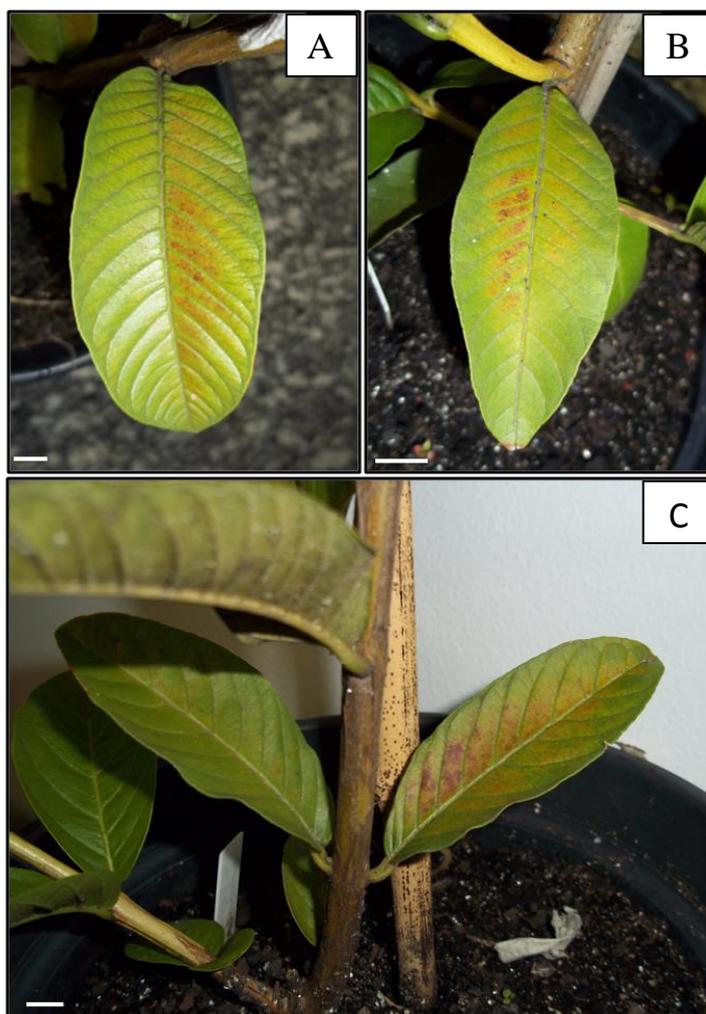
Quando os resultados de Asat e gs são reunidos de acordo com o cronograma da refinaria, considerando apenas dois períodos, a 1ª e 2ª etapas e a 3ª etapa, nota-se uma redução na Asat acompanhada de reduções na gs. Os resultados da 2ª etapa, por compreenderem um curto período de transição, foram inclusos nos resultados da 1ª etapa, uma vez que foram mais semelhantes a estes (Figura 17).



**Figura 17.** Assimilação líquida de CO<sub>2</sub> sob radiação fotossinteticamente ativa saturante ( $A_{\text{sat}}$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) (A) e Condutância estomática ( $g_s$ ,  $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) (B) em indivíduos jovens de *Psidium guajava* ‘Paluma’,  $n = 6$ , expostos nos meses de novembro/2009 a julho/2010 (1ª e 2ª etapa do cronograma da refinaria), julho/2010 a abril/2011 (3ª etapa do cronograma da refinaria) nas áreas de estudo no entorno da refinaria, em Cubatão/SP. Letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre os pontos de exposição. Letras minúsculas indicam diferenças significativas de um mesmo ponto nas duas etapas.

### 4.1.3 Injúrias foliares visíveis

As injúrias foliares visíveis observadas em *Psidium guajava* ‘Paluma’ sugiram inicialmente na superfície adaxial das folhas mais velhas, caracterizadas como pontuações vermelho-amarronzadas entre as nervuras (Figura 18).



**Figura 18.** Manifestação de injúrias foliares visíveis induzidas por  $O_3$  em plantas jovens de *Psidium guajava* 'Paluma' expostas nos pontos CEPEMA (A), CM1 (B) e CM5 (C) no período de outubro/2010 a janeiro/2011 (5ª exposição). Escala: 1 cm.

Os percentuais de severidade, a incidência e o índice de injúria foliar variaram entre as plantas expostas nas diferentes áreas durante o período de estudo, porém, a estimativa da porcentagem de área foliar ocupada pelos sintomas foi baixa em todas as exposições, estando estes distribuídos entre as classes 1 (1 – 5%) e 2 (6 – 25%). Somente nas plantas expostas no Centro não foi observada a ocorrência de injúrias foliares visíveis (Figura 19).

Na 3ª exposição houve a manifestação de injúrias foliares nas plantas expostas no CM1 e CM5, as quais surgiram ao final do período de exposição. Nas plantas do CM5 os sintomas foram mais expressivos, atingindo 50% de incidência, 18% de severidade e o maior valor para IIF, 1,61%, considerando todo o período de estudo (Figura 19).

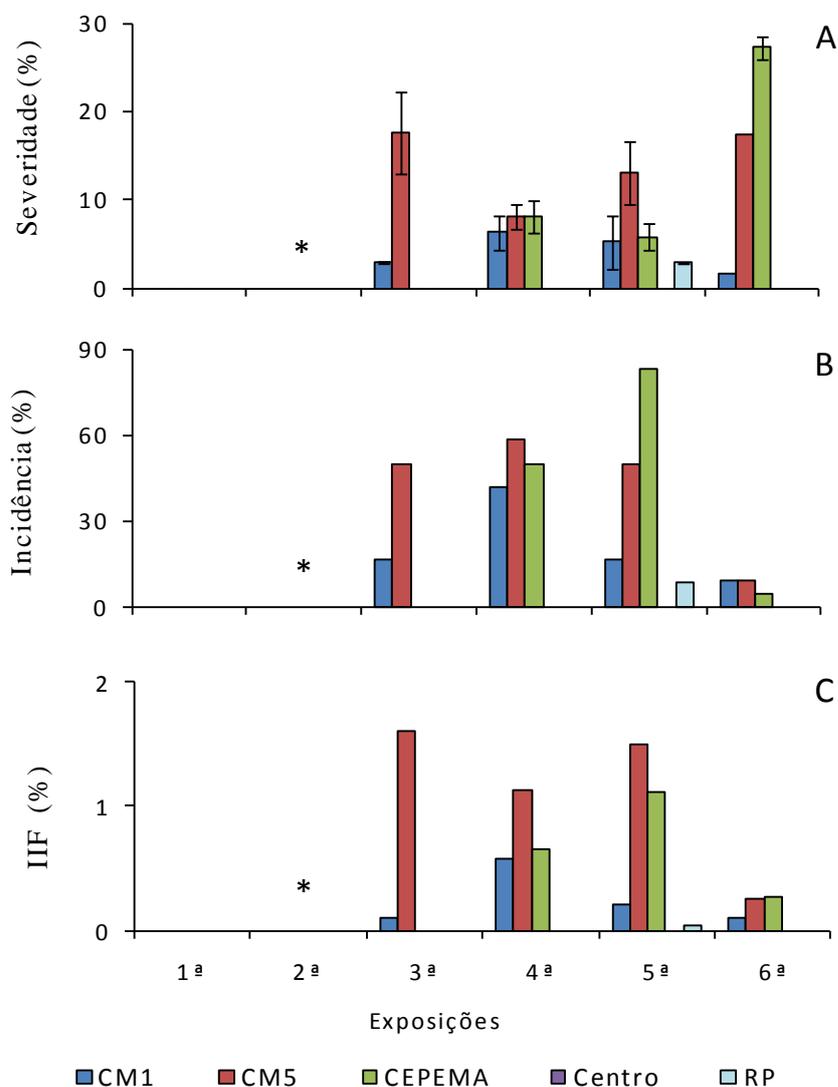
O surgimento de injúrias foliares na 4ª exposição pode ser observado nos pontos CM1, CM5 e CEPEMA. Os valores de severidade foram iguais para as plantas expostas no CM5 e

CEPEMA (8%), sendo um pouco menor nas plantas do CM1 (6%). Nas plantas expostas no CM5 observou-se uma maior incidência de injúrias (58%) com relação às outras áreas, mantendo também um valor um pouco mais elevado de IIF (1,13%) (Figura 19).

Na 5ª exposição o surgimento de sintomas ocorreu após aproximadamente 60 dias de exposição nas plantas presentes nos pontos CM1, CM5, CEPEMA e RP. As plantas expostas no CEPEMA apresentaram elevada incidência (83%), entretanto, a severidade foi baixa (6%) e o IIF ficou abaixo do encontrado para as plantas do CM5 (1,5%), as quais também apresentaram maior severidade (13%). Apenas 8% das plantas expostas no RP apresentaram injúrias foliares (Figura 19).

A 6ª exposição foi caracterizada por uma elevada severidade das injúrias nas plantas expostas no CEPEMA (27%), enquanto a incidência foi maior nas plantas expostas no CM1 e CM5 (9%). Os valores para o IIF foram semelhantes para as plantas do CM5 (0,26) e CEPEMA (0,27), e mais baixos nas plantas do CM1 (0,10) (Figura 19)

De modo geral, as injúrias foram mais frequentes e severas nas plantas expostas no CM5, as quais apresentaram os maiores valores em IIF (Figura 19).



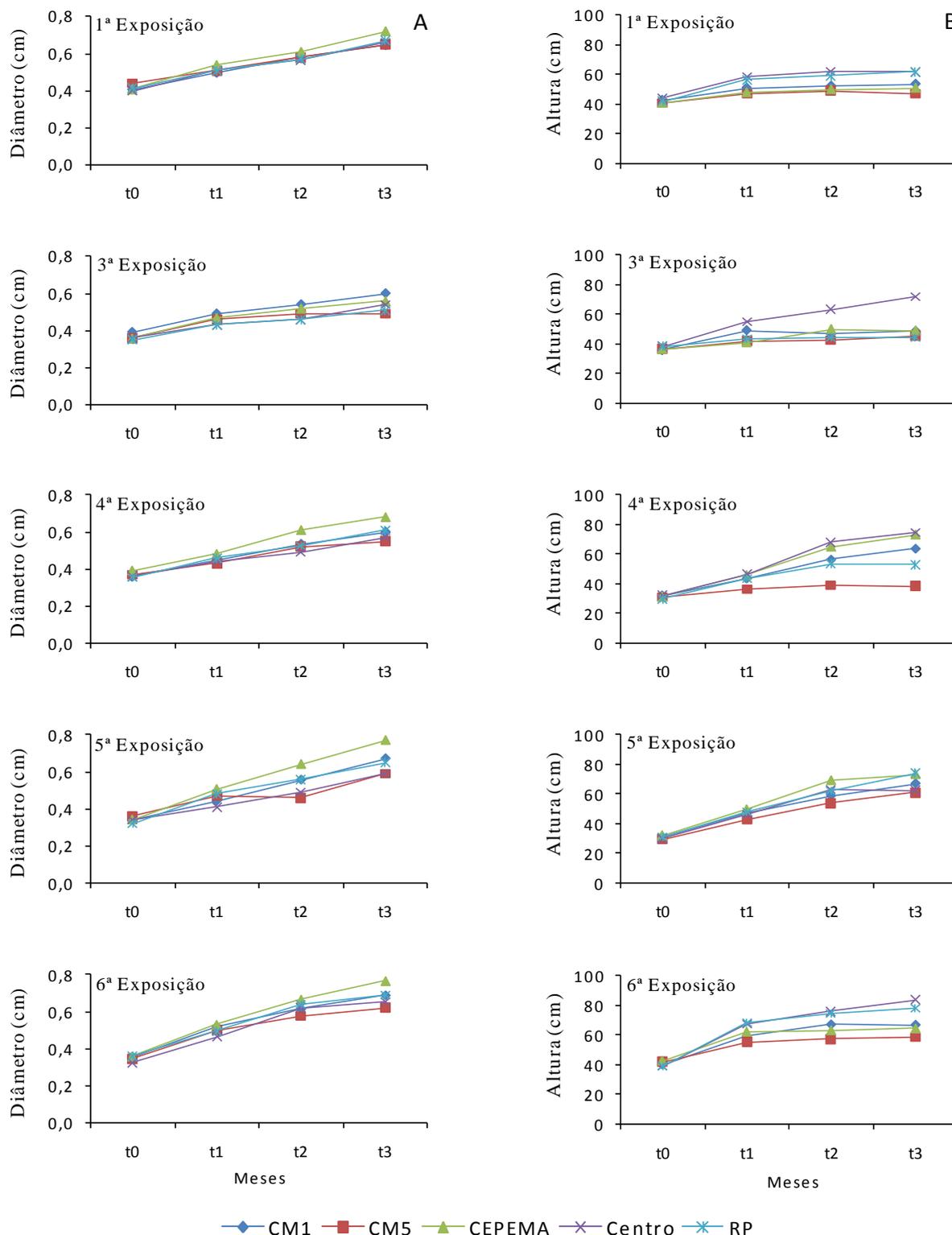
**Figura 19.** Severidade (A), incidência (B) e índice de injúria foliar (C), %, n = 12, verificados em indivíduos jovens de *Psidium guajava* ‘Paluma’ expostos no entorno de uma refinaria em Cubatão/SP, por períodos de 90 dias nos meses de novembro/2009 a fevereiro/2010 (1ª exposição), fevereiro/2010 a maio/2010 (2ª exposição), maio/2010 a julho/2010 (3ª exposição), julho/2010 a outubro/2010 (4ª exposição), outubro/2010 a janeiro/2011 (5ª exposição) e janeiro/2011 a abril/2011 (6ª exposição). \*Não determinado.

#### 4.1.4 Crescimento

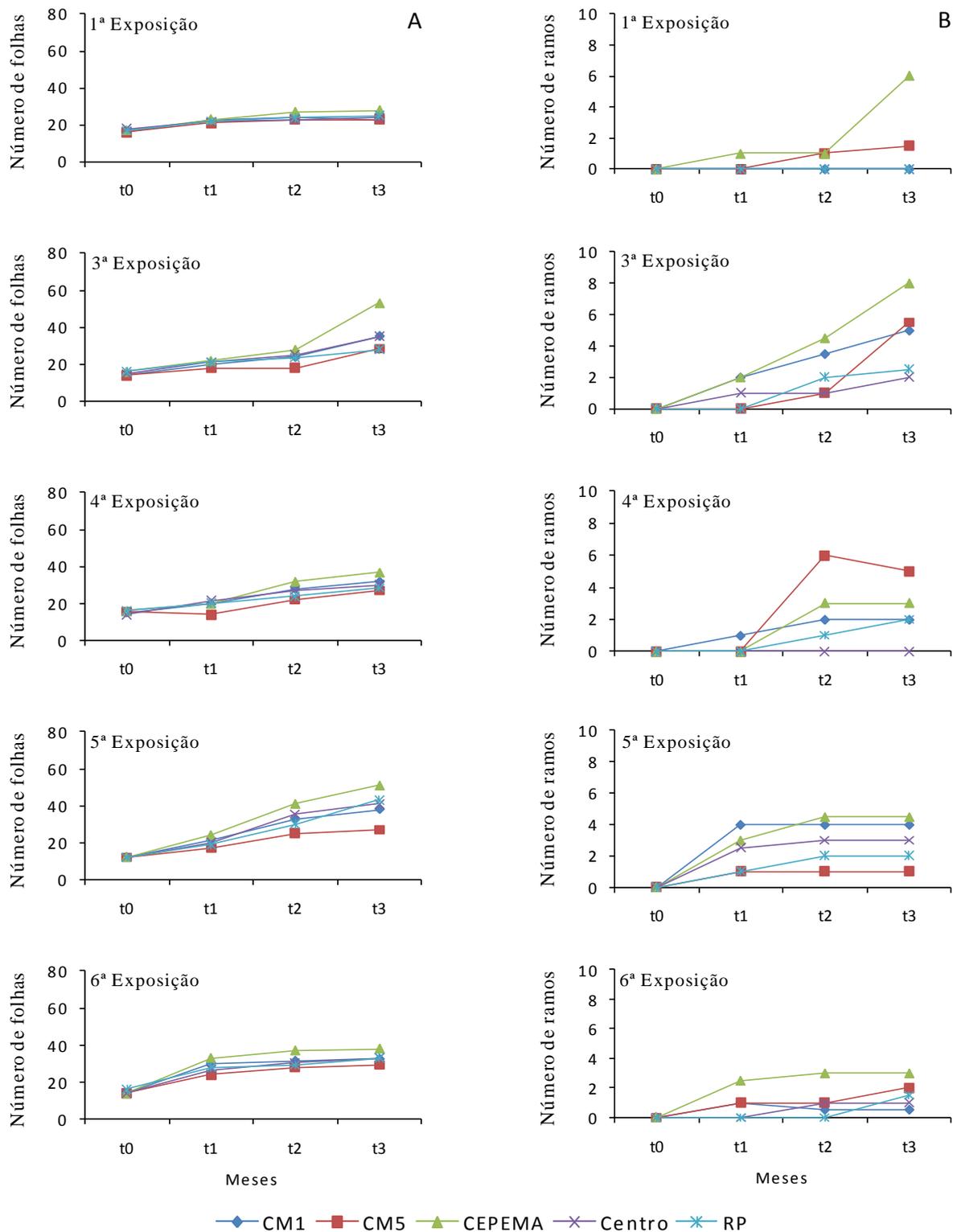
Os resultados de crescimento, incluindo medidas de diâmetro, altura, número de folhas e número de ramos, permitiram visualizar a progressão destes parâmetros e observar o surgimento de tendências nas plantas expostas nos diferentes pontos (Figuras 20 e 21, tabela 7).

As plantas mantidas no CM5 apresentaram menor diâmetro e altura ao final de todas as exposições. O número de folhas também foi sempre menor nessas plantas, com a exceção

da 1ª exposição em que não houve diferenças. Plantas expostas no CEPEMA foram as que apresentaram maior crescimento, seguidas pelas do Centro e RP (Figuras 20 e 21, tabela 7).



**Figura 20.** Medianas de crescimento em diâmetro (A) e altura (B) em indivíduos jovens de *Psidium guajava* ‘Paluma’, n = 12, expostos nas áreas de estudo durante os meses de novembro/2009 a fevereiro/2010 (1ª exposição), maio/2010 a julho/2010 (3ª exposição), julho/2010 a outubro/2010 (4ª exposição), outubro/2010 a janeiro/2011 (5ª exposição) e janeiro/2011 a abril/2011 (6ª exposição). (t1-4ª semana; t2 – 8ª semana; t3 – 12ª semana). Não determinado na 2ª exposição.



**Figura 21.** Medianas de crescimento em número de folhas (A) e número de ramos (B) em indivíduos jovens de *Psidium guajava* 'Paluma', n = 12, expostos nas áreas de estudo durante os meses de novembro/2009 a fevereiro/2010 (1ª exposição), maio/2010 a julho/2010 (3ª exposição), julho/2010 a outubro/2010 (4ª exposição), outubro/2010 a janeiro/2011 (5ª exposição) e janeiro/2011 a abril/2011 (6ª exposição). (t1- 4ª semana; t2 – 8ª semana; t3 – 12ª semana). Não determinado na 2ª exposição.

**Tabela 7.** Medianas de crescimento em diâmetro (cm), altura (cm), número de folhas e número de ramos de plantas jovens de *Psidium guajava* ‘Paluma’, n = 12, expostas nas áreas de estudo durante os meses de novembro/2009 a fevereiro/2010 (1ª exposição), fevereiro/2010 a maio/2010 (2ª exposição), maio/2010 a julho/2010 (3ª exposição), julho/2010 a outubro/2010 (4ª exposição), outubro/2010 a janeiro/2011 (5ª exposição) e janeiro/2011 a abril/2011 (6ª exposição), referentes ao final da exposição (t3). Med.= mediana; EP= erro padrão. Letras minúsculas indicam diferença estatística entre os pontos de exposição.

	Pontos de Exposição	Diâmetro		Altura		Nº de folhas		Nº de ramos	
		Med.	EP	Med.	EP	Med.	EP	Med.	EP
1ª Exp.	CM1	0,65 b	± 0,01	53,5 ab	± 1,4	23,0 a	± 1,2	0,0 ab	± 0,3
	CM5	0,65 b	± 0,02	47,0 b	± 2,7	23,0 a	± 1,9	1,5 ab	± 0,3
	CEPEMA	0,72 a	± 0,01	51,0 b	± 1,5	28,0 a	± 2,3	6,0 a	± 2,0
	Centro	0,66 ab	± 0,01	61,8 a	± 1,9	24,0 a	± 1,5	0,0 ab	± 0,3
	RP	0,67 ab	± 0,02	62,0 a	± 1,6	25,0 a	± 1,0	0,0 b	± 0,1
3ª Exp.	CM1	0,60 a	± 0,02	48,8 b	± 2,8	35,0 ab	± 1,8	5,0 ab	± 0,4
	CM5	0,49 b	± 0,01	45,5 b	± 2,1	28,5 b	± 2,3	5,5 ab	± 0,7
	CEPEMA	0,56 ab	± 0,03	49,0 ab	± 5,8	53,0 a	± 3,3	8,0 a	± 0,9
	Centro	0,54 ab	± 0,02	72,0 a	± 3,2	35,0 ab	± 2,4	2,0 b	± 0,7
	RP	0,51 ab	± 0,03	44,5 b	± 2,9	28,0 b	± 2,3	2,5 b	± 0,7
4ª Exp.	CM1	0,60 ab	± 0,02	64,0 ab	± 3,1	32,0 ab	± 1,7	2,0 b	± 0,3
	CM5	0,55 b	± 0,01	38,5 c	± 2,5	27,0 b	± 1,6	5,0 a	± 0,4
	CEPEMA	0,68 a	± 0,01	73,0 a	± 1,7	37,0 a	± 2,8	3,0 ab	± 0,6
	Centro	0,57 b	± 0,01	74,5 a	± 1,5	30,0 ab	± 1,3	0,0 b	± 0,3
	RP	0,61 b	± 0,02	53,0 bc	± 3,9	28,5 ab	± 1,7	2,0 b	± 0,4
5ª Exp.	CM1	0,67 ab	± 0,01	67,0 ab	± 3,7	38,0 ab	± 1,6	4,0 a	± 0,4
	CM5	0,59 c	± 0,02	61,0 b	± 2,2	27,0 b	± 1,9	1,0 b	± 0,6
	CEPEMA	0,77 a	± 0,02	73,0 a	± 3,4	51,0 a	± 2,2	4,5 a	± 0,5
	Centro	0,59 bc	± 0,02	62,5 ab	± 3,4	41,0 a	± 3,0	3,0 ab	± 0,3
	RP	0,65 abc	± 0,02	74,0 a	± 2,7	43,0 a	± 1,9	2,0 ab	± 0,3
6ª Exp.	CM1	0,69 ab	± 0,01	67,0 ab	± 2,6	32,5 ab	± 3,2	0,5 a	± 1,1
	CM5	0,62 b	± 0,02	58,8 b	± 2,4	29,0 b	± 1,4	2,0 a	± 0,3
	CEPEMA	0,77 a	± 0,02	64,8 b	± 1,9	38,0 a	± 2,0	3,0 a	± 0,6
	Centro	0,66 b	± 0,02	83,8 a	± 2,9	33,0 ab	± 1,7	1,0 a	± 0,3
	RP	0,69 ab	± 0,01	78,3 a	± 2,6	33,0 ab	± 1,3	1,5 a	± 0,5

A análise estatística da TCR apontou uma alta variabilidade nos resultados, porém foi possível distinguir algumas singularidades entre as plantas expostas nos diferentes pontos.

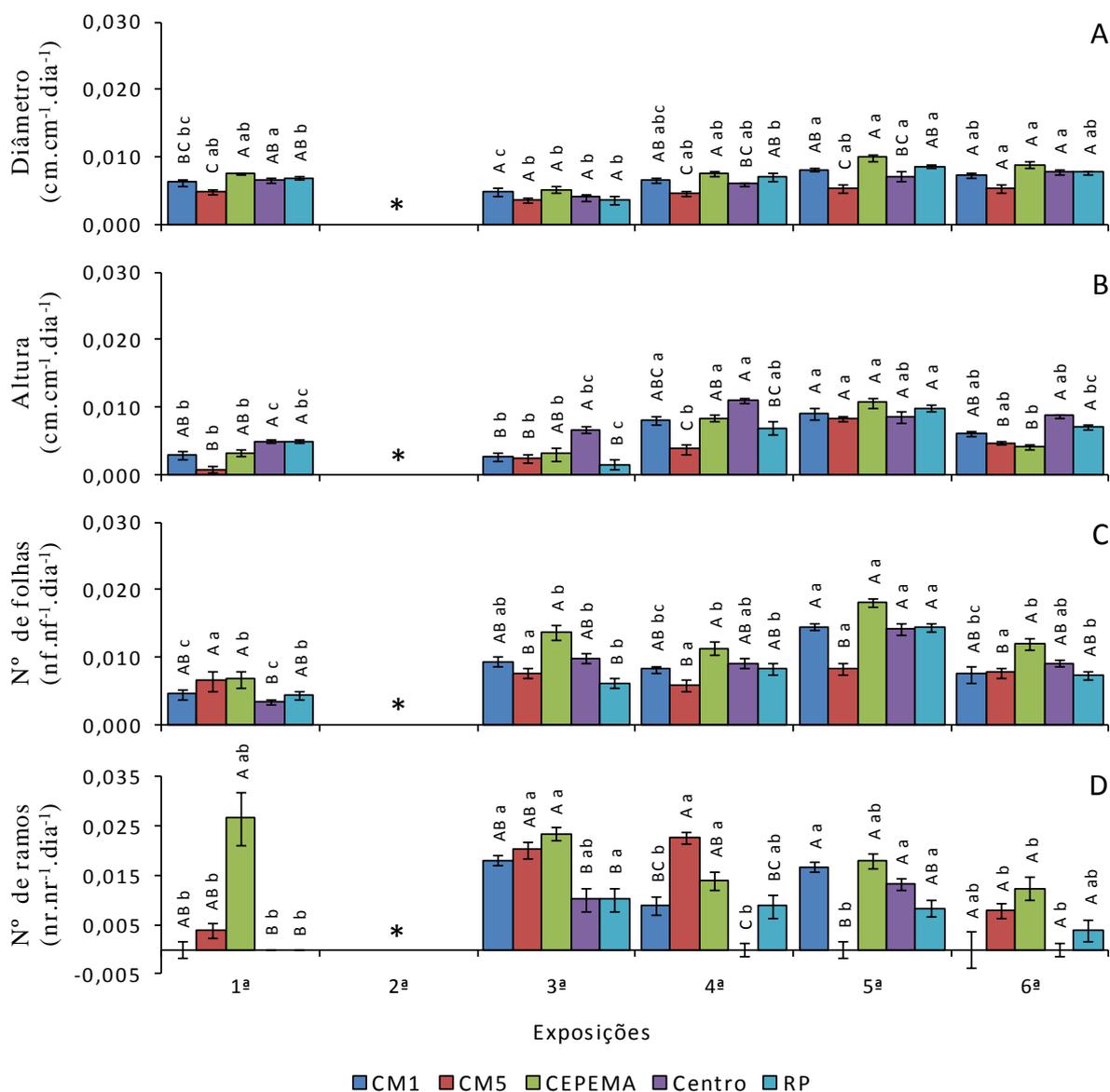
A TCR em diâmetro de caule não variou na 3ª e na 6ª exposições entre os locais de estudo (Figura 22-A). Nas demais exposições, as plantas expostas no CEPEMA apresentaram maior crescimento relativo em todas as exposições, enquanto o menor incremento em diâmetro foi obtido pelas plantas expostas no CM5. Os resultados obtidos com as plantas expostas no CM1 e RP foram mais próximos aos obtidos no CEPEMA, enquanto os valores

obtidos com as plantas do Centro foram mais próximos aos verificados no CM5 (Figura 22-A).

Em altura, na 5ª exposição não houve diferença significativa entre as TCR das plantas expostas nos diferentes pontos (Figura 22-B). Nas demais exposições, as plantas que cresceram mais foram as expostas no Centro, enquanto o menor incremento em altura foi obtido pelas plantas do CM5, durante toda a exposição. As plantas expostas no CEPEMA e CM1 apresentaram TCR intermediárias, obtendo menores valores na 3ª exposição (CM1) e na 6ª exposição (CEPEMA). As plantas expostas no RP apresentaram valores semelhantes ao Centro, na 1ª e 6ª exposições, assim como valores semelhantes ao CM5, na 3ª e 4ª exposições (Figura 22-B).

O crescimento em número de folhas foi maior nas plantas expostas no CEPEMA. Já as plantas do CM5 apresentaram menor crescimento relativo apenas na 1ª exposição. As plantas expostas no CM1, Centro e RP apresentaram, na maioria das vezes, TCR intermediária, porém na 5ª exposição alcançaram os maiores valores. As plantas expostas no Centro apresentaram TCR baixa apenas na primeira exposição, o mesmo ocorreu com as plantas do RP na 3ª exposição (Figura 22-C).

Os valores de TCR de número de ramos não diferiram na 6ª exposição, sendo que o surgimento de ramos foi mais frequente nas plantas expostas no CEPEMA. As plantas do Centro e RP apresentaram menor surgimento de novos ramos, obtendo maiores valores apenas na 5ª exposição. As plantas expostas no CM1 e CM5 não apresentaram um padrão de resposta (Figura 22-D).



**Figura 22.** Taxa de crescimento relativo em diâmetro (A), altura (B), número de folhas (C) e número de ramos (D) de plantas jovens de *Psidium guajava* ‘Paluma’, n = 12, expostas nas áreas de estudo durante os meses de novembro/2009 a fevereiro/2010 (1ª exposição), fevereiro/2010 a maio/2010 (2ª exposição), maio/2010 a julho/2010 (3ª exposição), julho/2010 a outubro/ 2010 (4ª exposição), outubro/2010 a janeiro/2011 (5ª exposição) e janeiro/2011 a abril/2011 (6ª exposição). Letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre os pontos de exposição; letras minúsculas indicam diferenças significativas de um mesmo ponto em exposições distintas. \*Não determinado.

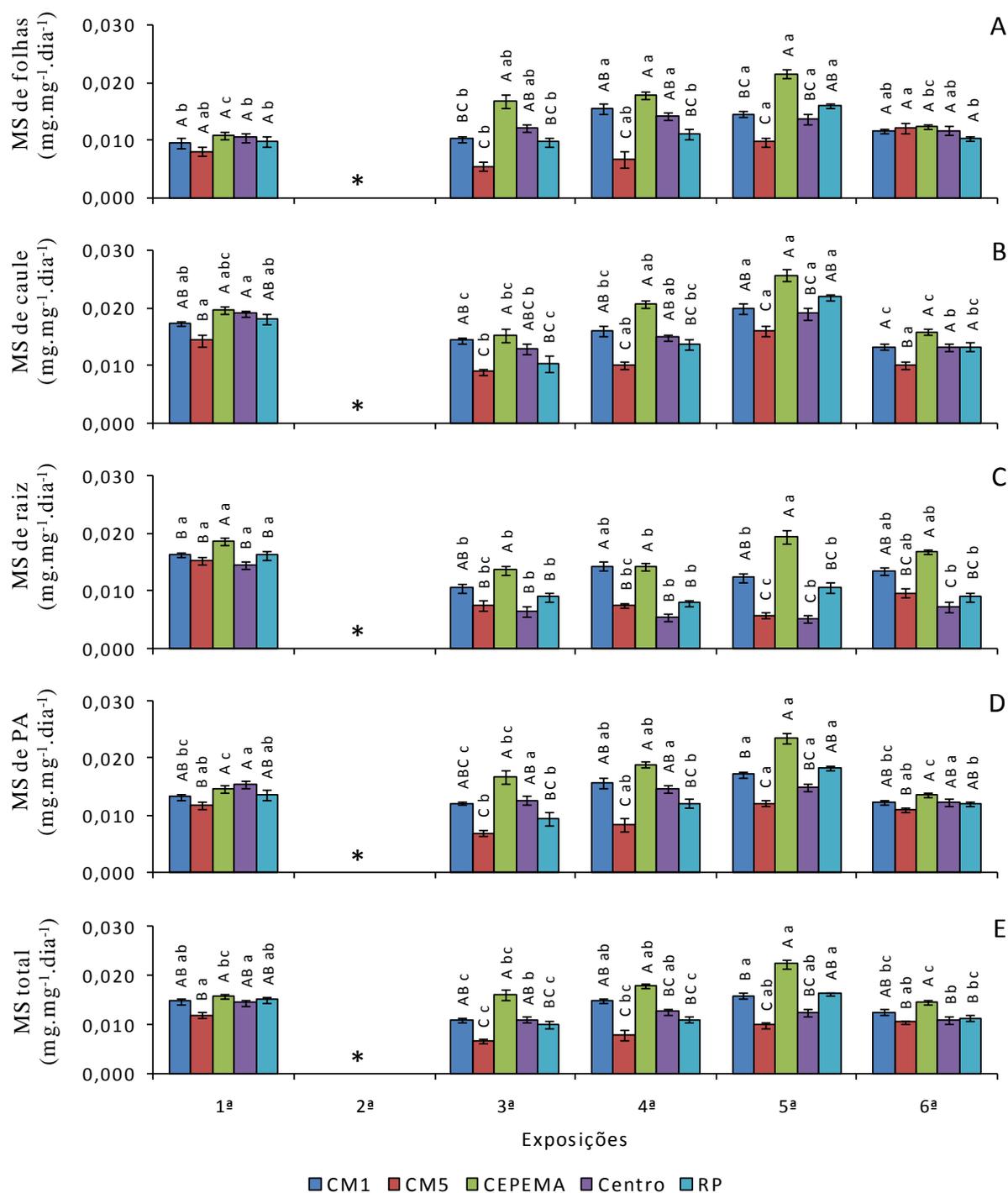
A TCR de massa seca de folhas não diferiu entre os pontos na 1ª e 6ª exposições. Nas outras três, as plantas que permaneceram no CEPEMA apresentaram maior crescimento relativo, enquanto ocorreu o contrário com as plantas do CM5. As plantas expostas nos demais pontos apresentaram valores intermediários. As plantas do CM1 e RP apresentaram valores mais próximos do CM5, enquanto as do Centro apresentaram valores mais próximos do CEPEMA (Figura 23-A).

No que se refere à TCR de massa seca de caule, os maiores valores foram obtidos pelas plantas expostas no CEPEMA, enquanto os menores valores foram obtidos pelas plantas expostas no CM5. Nos outros pontos, na maioria das vezes, as plantas apresentaram valores intermediários. Entretanto, nos pontos CM1 e RP, as plantas alcançaram maiores valores na 6ª exposição e no Centro, as plantas apresentaram maiores valores na 6ª e na 1ª exposições (Figura 23-B).

A maior TCR em massa seca de raiz foi obtida pelas plantas expostas no CEPEMA, enquanto a menor foi obtida pelas plantas expostas nos pontos CM5, Centro e RP, durante todo período de exposição. As plantas expostas no CM1 apresentaram valores intermediários, porém mais próximos aos valores obtidos pelas plantas do CEPEMA (Figura 23-C).

O crescimento relativo em massa seca de parte aérea foi maior nas plantas expostas no CEPEMA, o contrário se observou nas plantas expostas no CM5, em todas as exposições. As plantas expostas no CM1, Centro e RP, na maioria das vezes, apresentaram valores intermediários, sem evidenciar um padrão (Figura 23-D). Os valores obtidos pelas plantas do Centro foram maiores na 1ª exposição e ocorreu uma redução na 5ª exposição. Nas plantas do RP houve uma redução na 3ª e 4ª exposições, o mesmo aconteceu nas plantas do CM1 na 5ª exposição.

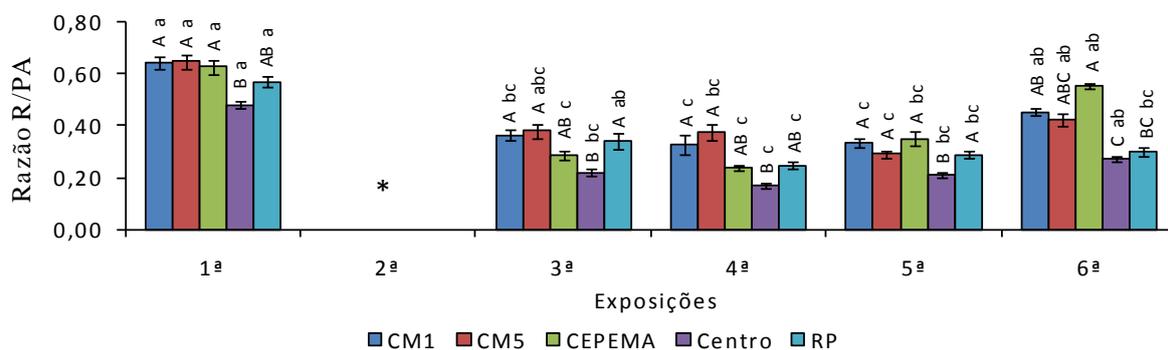
Os resultados obtidos quanto à massa seca total, no geral, corresponderam ao mesmo padrão obtido em quase todos os outros parâmetros. A maior TCR de massa seca ocorreu nas plantas que permaneceram no CEPEMA, ocorrendo o inverso com as plantas expostas no CM5, durante todas as exposições. De maneira geral, as plantas expostas nos demais pontos apresentaram valores intermediários. Entretanto, as plantas do Centro, a partir da 4ª exposição apresentaram menor produção de massa seca, assim como ocorreu no RP na 3ª, 4ª, e 6ª exposições e no CM1 apenas na 5ª exposição (Figura 23-E).



**Figura 23.** Taxas de crescimento relativo em massa seca de folhas (A), caule (B), raiz (C), parte aérea (D) e total de plantas jovens de *Psidium guajava* 'Paluma', n = 12, expostas nas áreas de estudo durante os meses de nov/2009 a fev/2010 (1ª exposição), fev/2010 a mai/2010 (2ª exposição), mai/2010 a jul/2010 (3ª exposição), jul/2010 a out/ 2010 (4ª exposição), out/2010 a jan/2011 (5ª exposição) e jan/2011 a abri/2011 (6ª exposição). Letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre os pontos de exposição; letras minúsculas indicam diferenças significativas de um mesmo ponto em exposições distintas. \*Não determinado.

A razão raiz/parte aérea, na maioria das vezes, foi maior nas plantas expostas no CM1 e CM5. Já as plantas expostas no CEPEMA, apesar de apresentarem dois valores intermediários, em três das cinco exposições alcançaram maiores valores. As plantas que

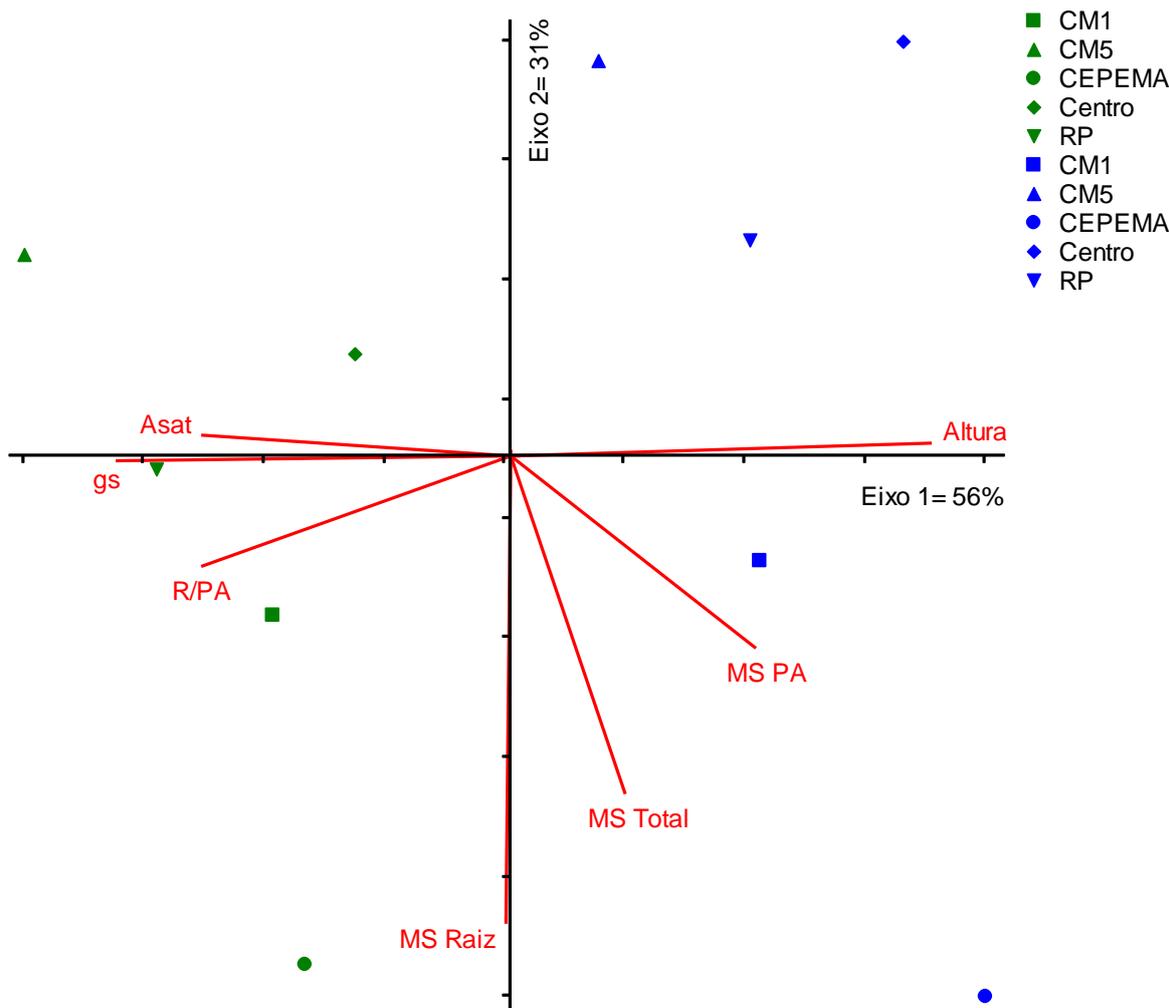
permaneceram no RP não evidenciaram um padrão. Os menores valores foram obtidos pelas plantas expostas no Centro, em todas as exposições (Figura 24).



**Figura 24.** Razão raiz/parte aérea de plantas jovens de *Psidium guajava* 'Paluma', n = 12, expostas nas áreas de estudo durante os meses de novembro/2009 a fevereiro/2010 (1ª exposição), fevereiro/2010 a maio/2010 (2ª exposição), maio/2010 a julho/2010 (3ª exposição), julho/2010 a outubro/ 2010 (4ª exposição), outubro/2010 a janeiro/2011 (5ª exposição) e janeiro/2011 a abril/2011 (6ª exposição). Letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre os pontos de exposição. Letras minúsculas indicam diferenças significativas de um mesmo ponto em exposições distintas \*Não determinado.

#### 4.1.5 Análise de Componentes Principais

A análise de componentes principais (ACP) sintetizou 87% da variabilidade total dos dados em seus dois primeiros eixos (figura 25 e tabela 8). A importância de cada variável na construção de cada eixo e a correlação entre ambos é dada pelo tamanho do vetor. As principais variáveis associadas ao eixo 1 foram: Asat ( $r = -0,80$ ), gs ( $r = -0,90$ ), Altura ( $r = 0,93$ ), MS PA ( $r = 0,71$ ) e R/PA ( $r = -0,80$ ), com o eixo 2, a MS raiz ( $r = -0,99$ ), MS total ( $r = -0,84$ ). O eixo 1 (56%) diferenciou as etapas do cronograma da refinaria, estando mais associado com Asat, gs, altura e MS da parte aérea. O eixo 2 (31%) diferenciou os pontos de exposição, estando associado com MS raiz e MS total. CM5, Centro e RP ficaram separados do CM1 e CEPEMA (Figura 25, tabela 8).



**Figura 25.** Ordenação das unidades amostrais pelo método de Análise de Componentes Principais. Abreviatura das variáveis: Asat: assimilação líquida de CO<sub>2</sub> sob radiação fotossinteticamente ativa saturante; gs: condutância estomática; Altura: taxa de crescimento relativo em altura; MS Raiz: massa seca de raiz; MS PA: massa seca de parte aérea. R/PA: razão raiz/parte aérea; MS total: massa seca total. As cores diferenciam as etapas do cronograma da refinaria. Verde: 1<sup>a</sup> e 2<sup>a</sup> etapas; Azul: 3<sup>a</sup> etapa.

**Tabela 8.** Variância explicada e acumulada (%) em cada eixo e a correlação entre as variáveis biológicas e os componentes principais.

	Componentes principais		
	1	2	3
Valor	3,87	2,12	0,69
Variância explicada (%)	56	31	10
Variância acumulada (%)	56	87	97
Correlações	1	2	3
Asat	-0,80	0,21	0,48
gs	-0,90	-0,10	0,37
Altura	0,93	0,16	0,28
MS de raiz	-0,09	-0,99	-0,03
MS de Parte aérea	0,71	-0,63	0,28
Razão raiz/parte aérea	-0,80	-0,48	-0,32
MS total	0,48	-0,84	0,22

## **4.2 Experimento em câmaras de topo aberto**

### **4.2.1 Condições meteorológicas e qualidade do ar**

A temperatura, assim como a umidade relativa do ar não variaram muito durante o período de estudo, no entanto, de acordo com os dados expostos na tabela 9, é possível distinguir dois períodos. A 1ª exposição, a qual abrangeu as estações de verão e outono, apresentou a maior média de temperatura e umidade relativa do ar. As outras duas exposições, as quais abrangeram períodos de outono, inverno e primavera apresentaram temperaturas mais baixas e redução na umidade relativa do ar. É importante ressaltar que no interior das câmaras ocorre um pequeno aumento da temperatura com relação ao ambiente externo (2 a 3 °C), assim como ocorre uma redução na umidade relativa do ar (3 a 5%).

A precipitação pluviométrica não apresentou distribuição homogênea durante o período de estudo. A 1ª exposição compreende o período em que houve maior precipitação, enquanto na 2ª e 3ª exposições houve uma redução (Tabela 9).

**Tabela 9.** Médias diárias de temperatura (T, graus Celsius), umidade relativa do ar (UR, %) e precipitação (mm) obtidas nos períodos de janeiro/2011 a abril/2011 (1ª exposição), maio/2011 a agosto/2011 (2ª exposição), agosto/2011 a novembro/2011 (3ª exposição) no município de Cubatão/SP.

	1ª Exp.	2ª Exp.	3ª Exp.	
	Média das médias	25,1	19,3	19,8
T °C	Média das máximas	28,9	23,5	23,8
	Média das mínimas	22,4	16,0	16,7
	Média das médias	92,4	88,2	82,3
UR%	Média das máximas	99,4	100,0	97,2
	Média das mínimas	75,9	66,2	57,0
	Precipitação acumulada (mm)	1184	294	534

\*Fonte: CETESB, 2011.

As concentrações de poluentes no interior das câmaras foram monitoradas durante todo o período de estudo, no entanto houve muitos períodos em que as concentrações não foram registradas devido à manutenção do equipamento, tornado a análise dos dados incompleta. Desse modo, as concentrações medidas, apresentadas na tabela 10, não podem ser validadas.

De acordo com a tabela 10, o NO<sub>2</sub> apresentou máximas elevadas em todas as exposições, no entanto a maior média ocorreu na 1ª exposição. Já o O<sub>3</sub> apresentou maior média na 3ª exposição, mas a máxima mais elevada ocorreu na 1ª exposição.

**Tabela 10.** Concentrações médias e máximas de NO, NO<sub>2</sub>, NO<sub>x</sub> e O<sub>3</sub> em µg m<sup>-3</sup> obtidas nas câmaras de topo aberto no período de janeiro/2011 a abril/2011 (1<sup>a</sup> exposição), maio/2011 a agosto/2011 (2<sup>a</sup> exposição), agosto/2011 a novembro/2011 (3<sup>a</sup> exposição). AF: ar filtrado; AA: ar ambiente.

		1 <sup>a</sup> Exposição		2 <sup>a</sup> Exposição		3 <sup>a</sup> Exposição	
		AF	AA	AF	AA	AF	AA
NO	Média	8	13	7	10	11	12
	Máxima	50	96	79	114	45	62
NO <sub>2</sub>	Média	12	17	3	5	4	7
	Máxima	83	113	54	111	37	115
O <sub>3</sub>	Média	14	18	12	18	15	23
	Máxima	67	139	35	80	59	68

#### 4.2.2 Trocas gasosas

Os parâmetros de trocas gasosas avaliados apresentaram variações significativas durante o período de estudo, diferenciando os dois tratamentos.

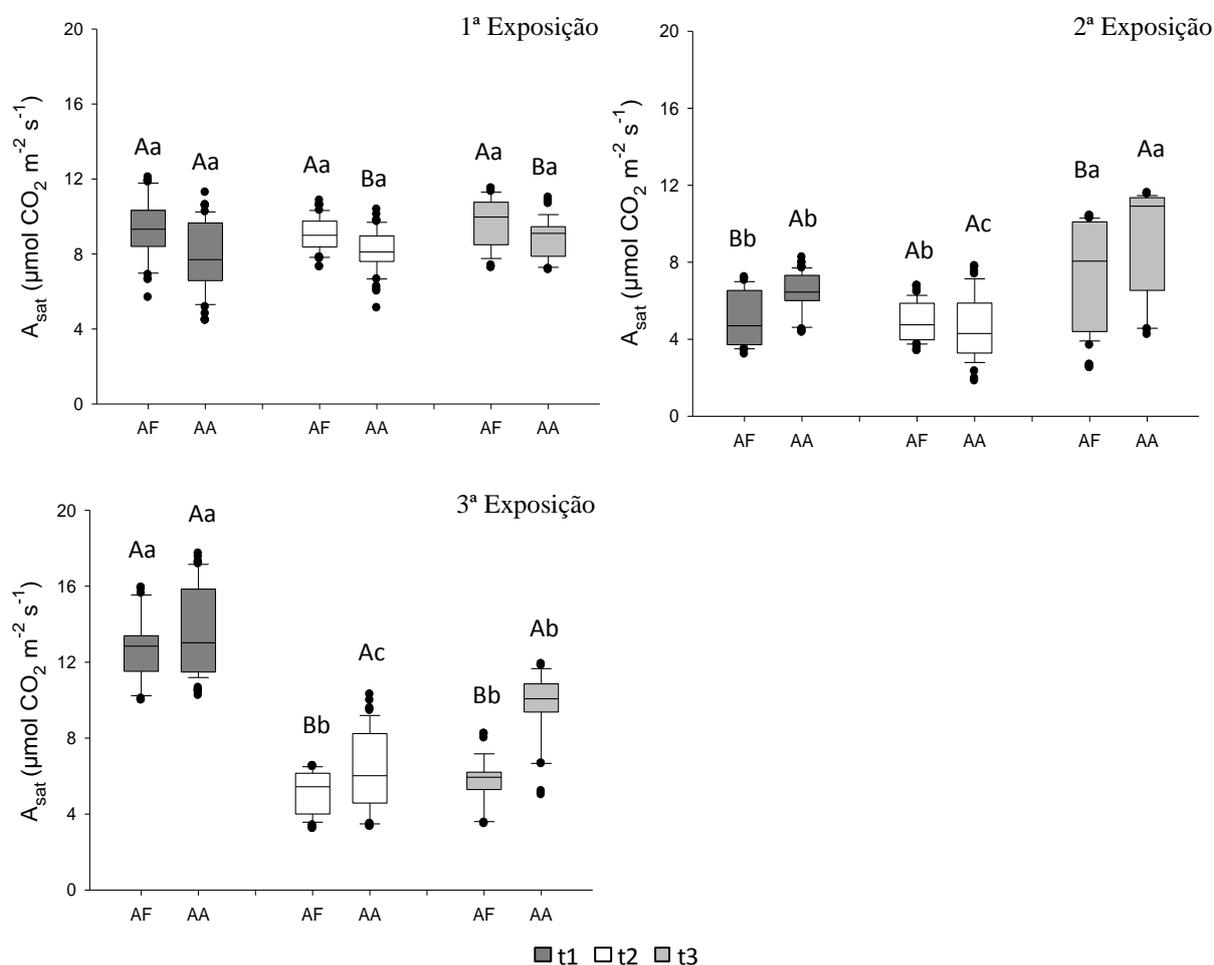
Na 1<sup>a</sup> exposição, as plantas expostas nas câmaras de AF apresentaram a assimilação líquida de carbono (Asat) significativamente mais alta do que as plantas expostas nas câmaras de AA, a partir da segunda medida (t2, 8<sup>a</sup> semana). O inverso ocorreu nas outras duas exposições, em que as plantas que permaneceram nas câmaras de AF apresentaram valores significativamente menores do que as plantas expostas no AA (Figura 26).

Na 1<sup>a</sup> exposição Asat não variou nas plantas de um mesmo tratamento ao longo do tempo, mas na 2<sup>a</sup> exposição houve um aumento de Asat na última medida quando comparada com a primeira e o contrário ocorreu na 3<sup>a</sup> exposição (Figura 26).

Quanto à condutância estomática, na 1<sup>a</sup> exposição não ocorreram diferenças significativas entre os resultados obtidos nos dois tratamentos (Figura 27) Na 2<sup>a</sup> exposição, observou-se que nas duas primeiras medidas as plantas expostas nas câmaras de AF apresentaram valores significativamente maiores do que os valores apresentados pelas plantas expostas nas câmaras de AA, porém na última medida (t3) não houve diferença entre os dois tratamentos. Na 3<sup>a</sup> exposição houve diferença significativa entre os dois tratamentos apenas na última medida, em que a condutância estomática foi maior nas plantas expostas nas câmaras de AA (Figura 27).

Os valores obtidos de transpiração também não diferiram entre os dois tratamentos durante a 1<sup>a</sup> exposição. Na 2<sup>a</sup> exposição, já na primeira medida, as plantas expostas nas câmaras de AF apresentaram valores maiores do que aquelas expostas nas câmaras de AA, entretanto na última medida o contrário foi observado. Na 3<sup>a</sup> exposição, na primeira e na

última medida as plantas expostas no AA apresentaram valores significativamente maiores do que as plantas expostas no AF (Figura 28).

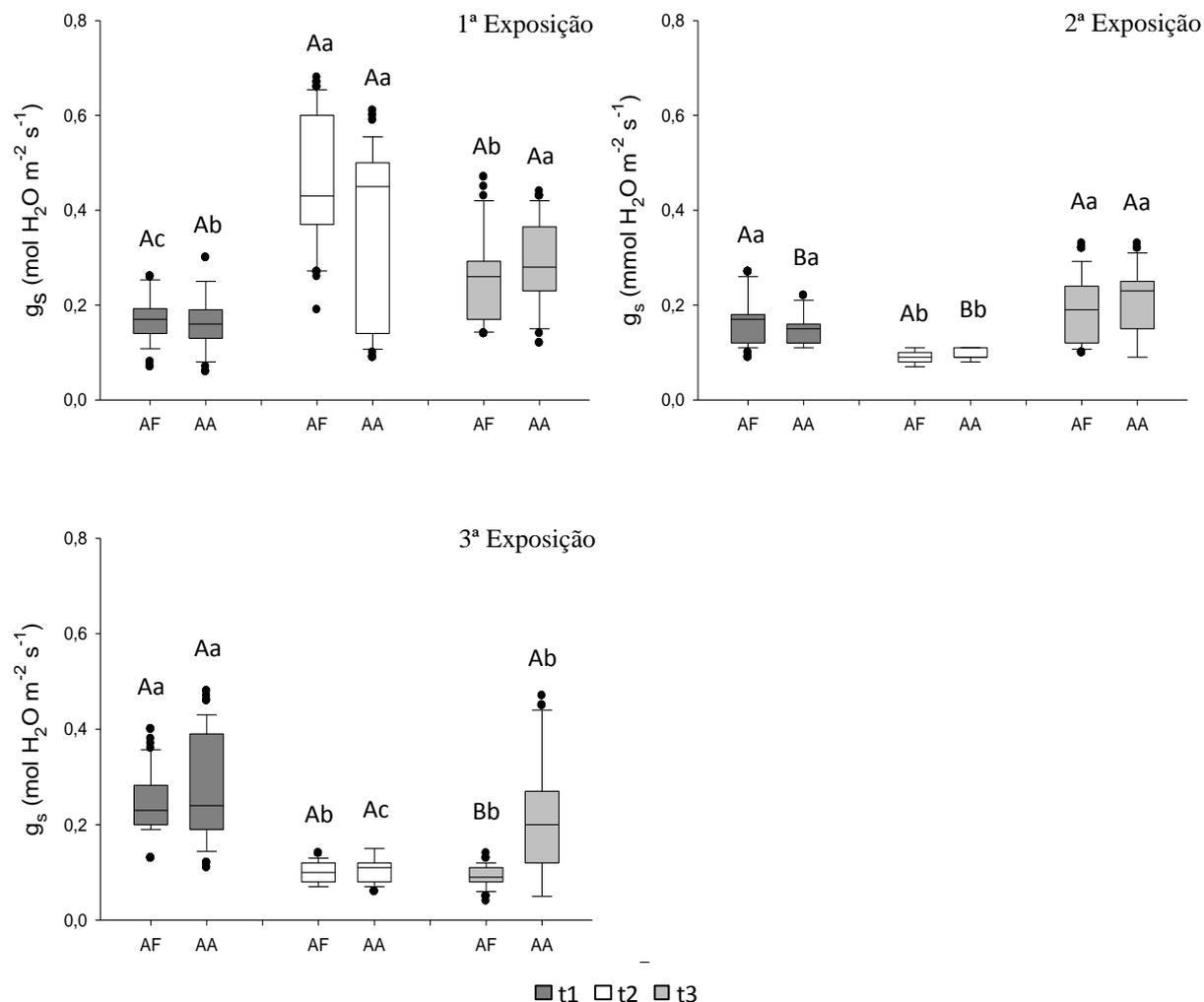


**Figura 26.** Assimilação líquida de CO<sub>2</sub> sob radiação fotossinteticamente ativa saturante ( $A_{sat}$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ,  $n = 12$ ), em indivíduos jovens de *Psidium guajava* 'Paluma' expostos de janeiro/2011 a abril/2011 (1<sup>a</sup> exposição), maio/2011 a agosto/2011 (2<sup>a</sup> exposição), agosto/2011 a novembro/2011 (3<sup>a</sup> exposição), em câmaras de topo aberto com ar filtrado (AF) e com ar ambiente (AA), nas proximidades da refinaria, em Cubatão/SP. Letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre os tratamentos. Letras minúsculas indicam diferenças significativas de um mesmo tratamento em períodos distintos de uma mesma exposição (t1- 4<sup>a</sup> semana; t2 – 8<sup>a</sup> semana; t3 – 11<sup>a</sup> semana).

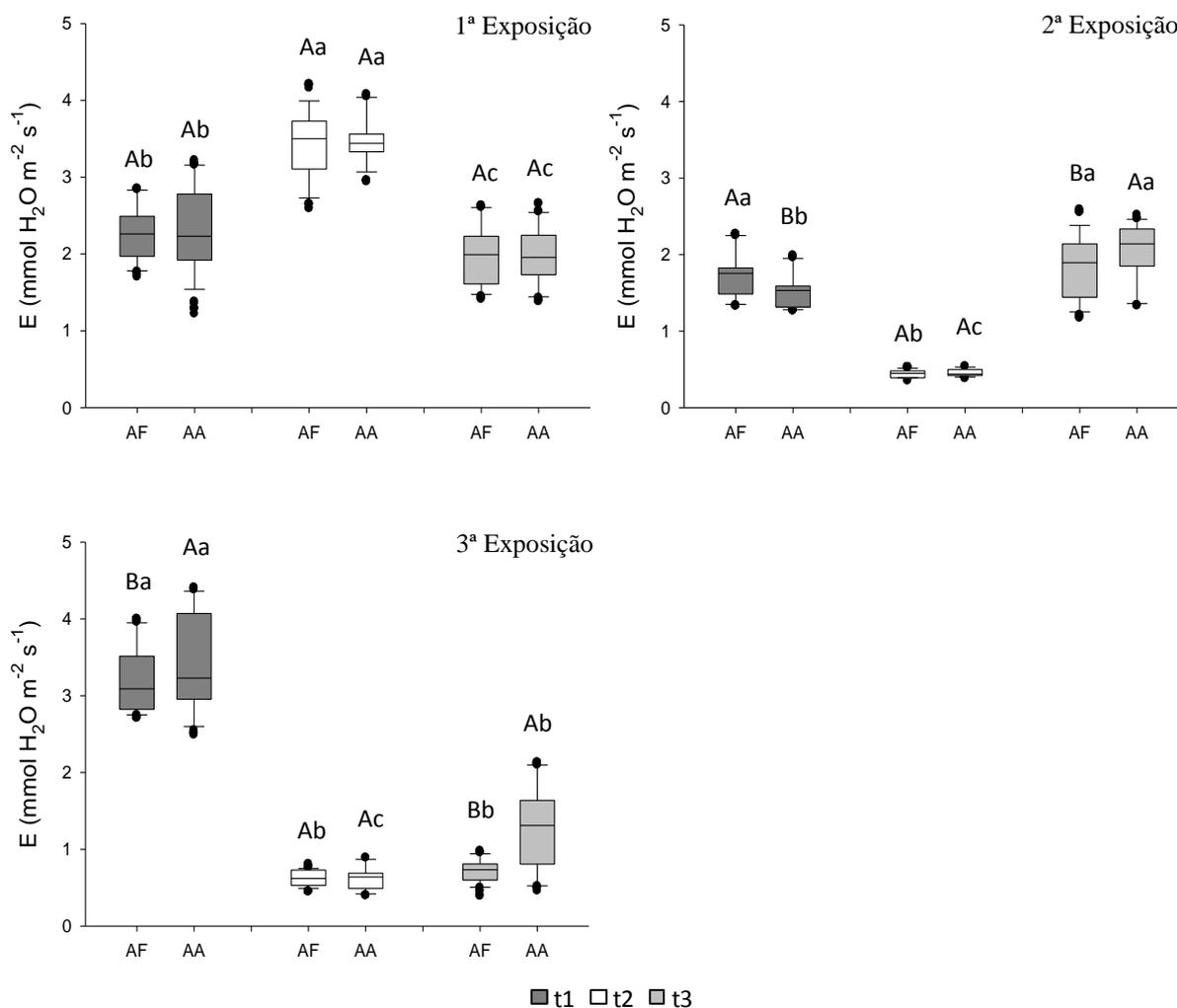
Na 1<sup>a</sup> exposição os parâmetros  $A_{sat}$ ,  $g_s$  e  $E$  não apresentaram um mesmo padrão. Enquanto a  $A_{sat}$  não variou, a  $g_s$  apresentou um redução em t1 (4<sup>a</sup> semana) seguida de um aumento nas duas últimas medidas, porém com alta variabilidade. A  $E$  foi maior em t2 (8<sup>a</sup> semana), apresentando uma redução na última medida. A  $g_s$  e a  $E$  não diferiram entre os tratamentos.

Nas outras duas medidas os três parâmetros de trocas gasosas seguiram um mesmo padrão. Na 2<sup>a</sup> exposição em t2 (8<sup>a</sup> semana) houve uma redução em todos os parâmetros, já na última medida (t3 – 12<sup>a</sup> semana) o aumento em  $A_{sat}$  foi acompanhado de aumento também

em gs e E. No final da exposição não houve diferença quanto à gs entre os dois tratamentos, no entanto as plantas expostas nas câmaras de AF apresentaram menor E. Na 3ª exposição as reduções de Asat nas duas últimas medidas foram acompanhadas de reduções na gs e E. Ao final da exposição, as plantas expostas nas câmaras de AF apresentaram menor gs e E.

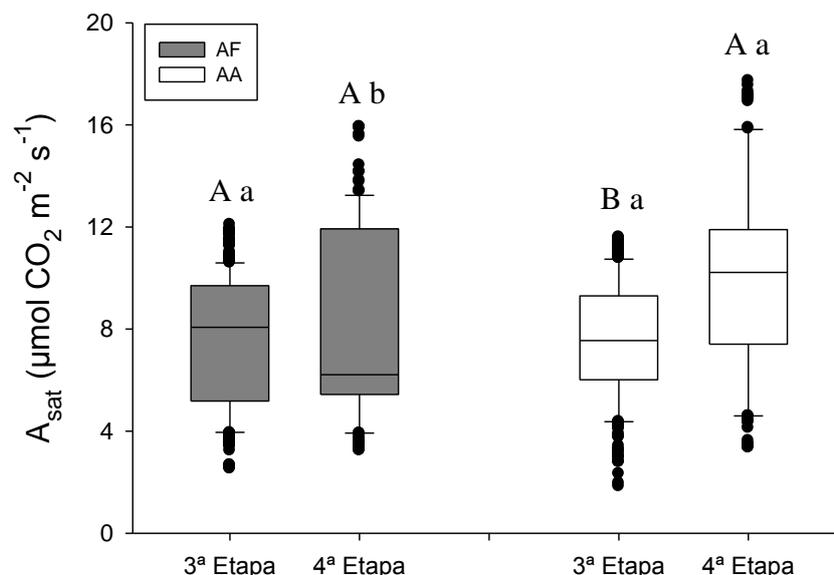


**Figura 27.** Condutância estomática ( $g_s$ ,  $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ,  $n = 12$ ), em indivíduos jovens de *Psidium guajava* ‘Paluma’ expostos de janeiro/2011 a abril/2011 (1ª exposição), maio/2011 a agosto/2011 (2ª exposição), agosto/2011 a novembro/2011 (3ª exposição), em câmaras de topo aberto com ar filtrado (AF) e com ar ambiente (AA), no entorno da refinaria, em Cubatão/SP. Letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre os tratamentos. Letras minúsculas indicam diferenças significativas de um mesmo tratamento em períodos distintos de uma mesma exposição (t1-4ª semana; t2 – 8ª semana; t3 – 11ª semana).



**Figura 28.** Transpiração ( $E$ ,  $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ,  $n = 12$ ), em indivíduos jovens de *Psidium guajava* ‘Paluma’ expostos de janeiro/2011 a abril/2011 (1ª exposição), maio/2011 a agosto/2011 (2ª exposição), agosto/2011 a novembro/2011 (3ª exposição), em câmaras de topo aberto com ar filtrado (AF) e com ar ambiente (AA), no entorno da refinaria, em Cubatão/SP. Letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre os tratamentos. Letras minúsculas indicam diferenças significativas de um mesmo tratamento em períodos distintos de uma mesma exposição (t1- 4ª semana; t2 – 8ª semana; t3 – 11ª semana).

Organizando as respostas obtidas em Asat de acordo com as etapas do cronograma da refinaria, nota-se que os tratamentos apresentaram respostas diferenciadas, como mostra a figura 29. A Asat obtida pelas plantas expostas nas câmaras de AF não apresentaram diferenças entre as duas etapas. Já as plantas expostas nas câmaras de AA apresentaram um aumento em Asat no período que corresponde a 4ª etapa do cronograma da refinaria.



**Figura 29.** Assimilação líquida de CO<sub>2</sub> sob radiação fotossinteticamente ativa saturante ( $A_{sat}$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ,  $n = 12$ ), em indivíduos jovens de *Psidium guajava* ‘Paluma’ expostos de janeiro/2011 a agosto/2011 (3ª etapa do cronograma da refinaria), agosto/2011 a novembro/2011 (4ª etapa do cronograma da refinaria), em câmaras de topo aberto com ar filtrado (AF) e com ar ambiente (AA), nas proximidades da refinaria, em Cubatão/SP. Letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre um mesmo tratamento em diferentes etapas. Letras minúsculas indicam as diferenças entre os dois tratamentos.

### 3.2.3 Curva de resposta à luz

Amax foi mais elevada na primeira medida da 1ª e da 3ª exposições, não diferindo entre os dois tratamentos. De um modo geral, apenas no t2 e t3 da 3ª exposição houve diferenças entre plantas exposta em AA e AF, com as plantas de AA apresentando maior Amax. A Ic variou mais, tanto entre tratamentos quanto em um mesmo tratamento, tendo oscilado mais nas plantas de AF, assim como Is. A diferença mais evidente em Is foi no t1 da 1ª exposição. Na 3ª exposição, as plantas dos dois tratamentos apresentaram redução de Is com o decorrer do tempo. Em cinco das sete medidas o RQA das plantas expostas em AA foi mais elevado do que o das plantas mantidas em AF (Tabela 11).

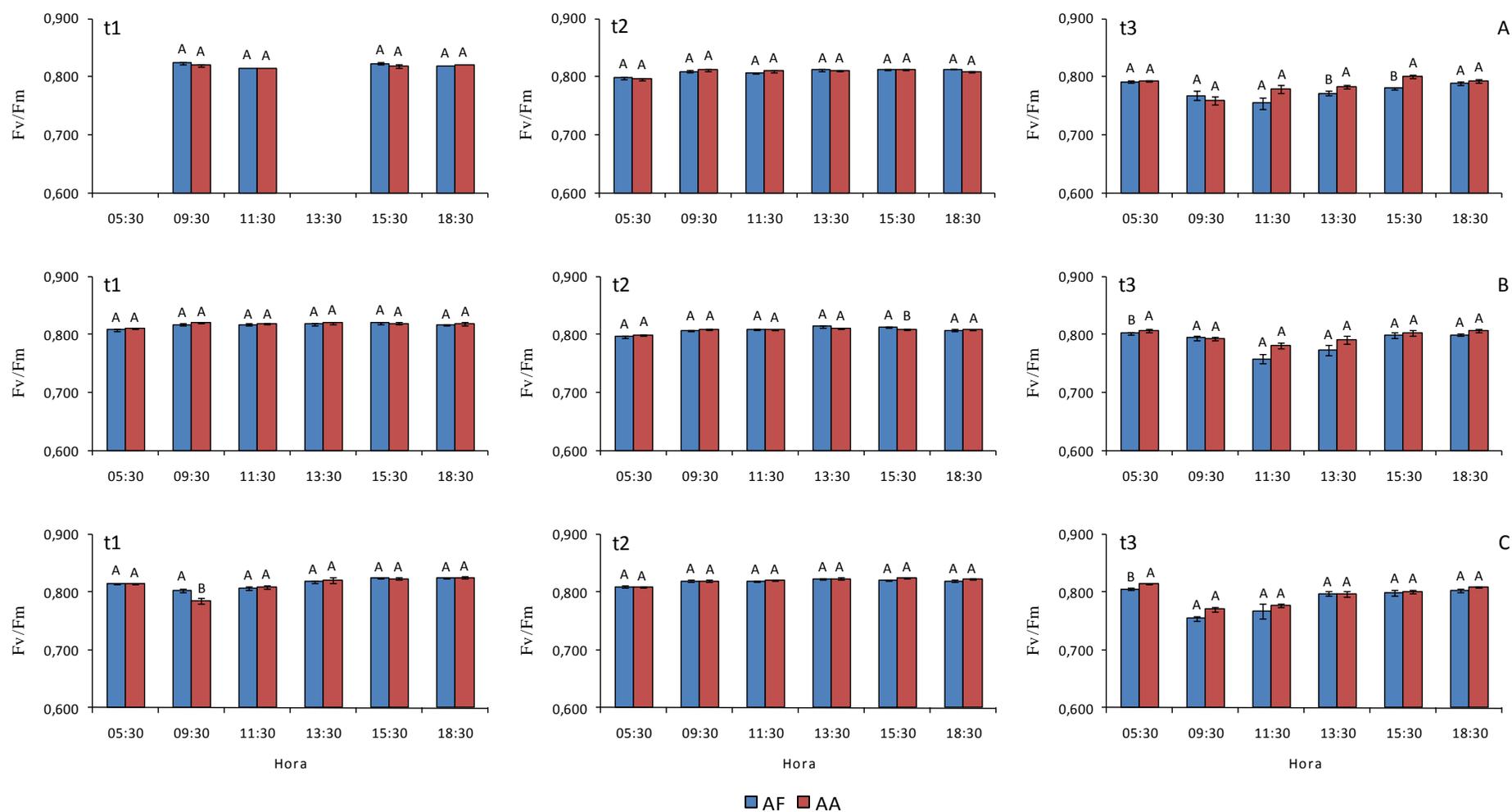
**Tabela 11.** Assimilação máxima de carbono (Amax,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), irradiância de compensação (Ic,  $\mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), irradiância de saturação (Is,  $\mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) e rendimento quântico aparente (RQA,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1} / \mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) em plantas jovens de *Psidium guajava* 'Paluma', n = 2, expostas ao ar ambiente (AA) e ar filtrado (AF) em câmaras de topo aberto, no período de janeiro/2011 a abril/2011 (1ª exposição), maio/2011 a agosto/2011 (2ª exposição), agosto/2011 a novembro/2011 (3ª exposição), em Cubatão, SP. (t1- 4ª semana; t2 – 8ª semana; t3 – 11ª semana). nd = não determinado.

Exp.	AA				Exp.	AF			
	Amax	Ic	Is	RQA		Amax	PCL	Is	RQA
T1	20,0	7,1	483	0,0972	T1	20,5	8,9	682	0,0784
1ª T2	nd	nd	-	nd	1ª T2	nd	nd	-	-
T3	nd	nd	-	nd	T3	nd	nd	-	-
T1	9,0	12,5	477	0,0450	T1	8,5	5,8	378	0,0528
2ª T2	9,3	7,14	419	0,0522	2ª T2	11,8	0,9	575	0,0474
T3	11,7	8,91	369	0,0754	T3	11,0	13,2	447	0,0588
T1	17,1	14,9	692	0,0612	T1	15,6	10,4	551	0,0667
3ª T2	8,9	21,0	356	0,0617	3ª T2	7,2	34,3	377	0,0489
T3	11,81	8,84	381	0,0734	T3	6,0	21,3	270	0,0538

### 3.2.4 Curso diário do rendimento quântico potencial do fotossistema II (Fv/Fm)

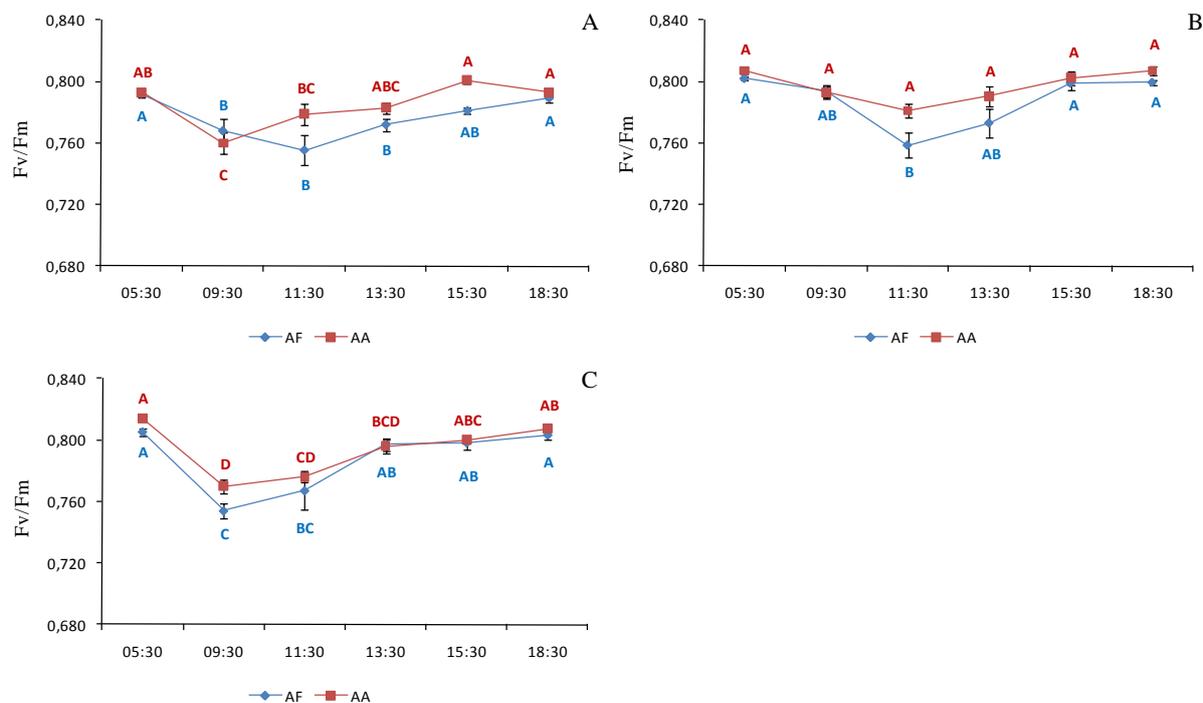
Os resultados dos cursos diários de Fv/Fm apresentaram um mesmo padrão em todas as exposições, com pequena variação entre os tratamentos.

Na 1ª exposição houve diferença significativa entre os tratamentos apenas na última medida (t3) em dois horários (13:30 h e 15:30 h), quando as plantas expostas nas câmaras de AF apresentaram valores significativamente menores do que as plantas expostas em AA. Na 2ª exposição, houve diferenças significativas na segunda medida, às 15:30 h, quando as plantas das câmaras de AF apresentaram valores significativamente maiores do que as plantas expostas nas câmaras de AA, o contrário ocorreu na terceira medida as 05:30h. Na 3ª exposição os tratamentos diferiram na primeira medida (t1) as 09:30 h, quando os valores de Fv/Fm foram maiores nas plantas expostas nas câmaras de AF. O inverso ocorreu na terceira medida às 05:30 h (Figura 30). Considerando as três medidas de cada exposição (t1, t2 e t3), nota-se que as reduções de Fv/Fm foram mais evidentes na última medida, t3, com comprovação estatística (Tabela 41 - Anexo).



**Figura 30.** Curso diário do rendimento quântico potencial do fotossistema II (Fv/Fm) em indivíduos jovens *Psidium guajava* ‘Paluma’ expostos de janeiro/2011 a abril/2011 (1ª exposição - A), maio/2011 a agosto/2011 (2ª exposição - B), agosto/2011 a novembro/2011 (3ª exposição - C), em câmaras de topo aberto com ar filtrado (AF) e com ar ambiente (AA), nas proximidades da refinaria, em Cubatão/SP. (t1- 4ª semana; t2 – 8ª semana; t3 – 11ª semana). Letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre os tratamentos. n = 12.

A figura 31 apresenta apenas os resultados de Fv/Fm obtidos na última medida (t3), mostrando as diferenças obtidas entre as medidas realizadas durante o curso diário de cada tratamento. Observando estes resultados ficam mais evidentes as reduções na razão Fv/Fm, as quais ocorreram no período entre 09:30 h e 13:30 h. As medidas realizadas ao amanhecer (05:30 h) e ao entardecer (18:30 h) apresentaram os valores mais elevados.



**Figura 31.** Curso diário do rendimento quântico potencial do fotossistema II (Fv/Fm) em indivíduos jovens *Psidium guajava* ‘Paluma’ expostos de janeiro/2011 a abril/2011 (1ª exposição - A), maio/2011 a agosto/2011 (2ª exposição - B), agosto/2011 a novembro/2011 (3ª exposição - C), em câmaras de topo aberto com ar filtrado (AF) e com ar ambiente (AA), nas proximidades da refinaria, em Cubatão/SP. (t3 – 11ª semana). Letras maiúsculas indicam diferenças significativas de um mesmo tratamento. n = 12.

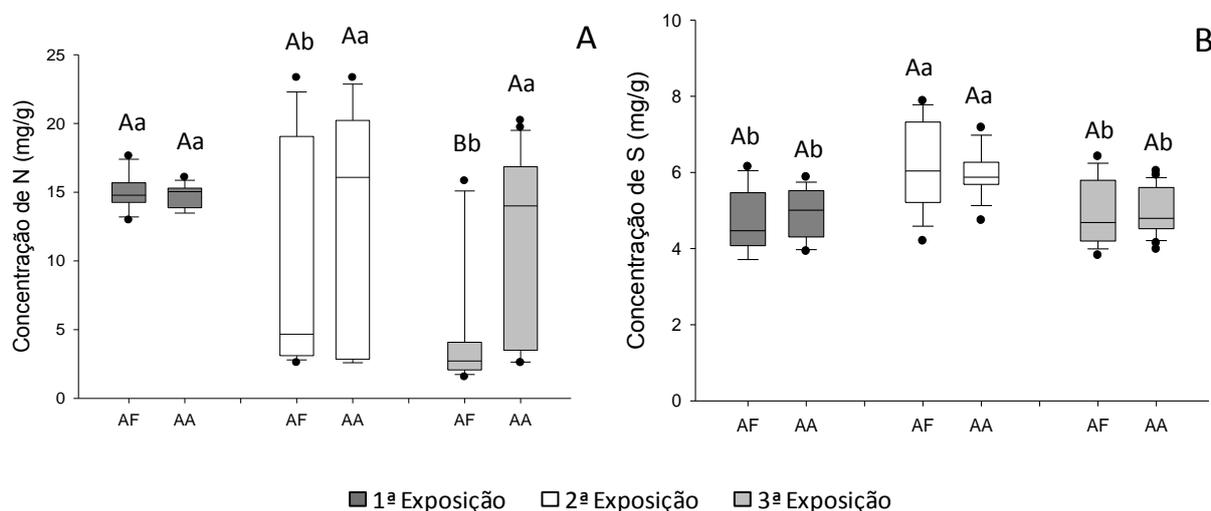
### 3.2.5 Acúmulo de elementos

A concentração foliar de N foi maior nas plantas expostas nas câmaras de AA, com comprovação estatística na 3ª exposição (Figura 32-A).

O conteúdo foliar de S obtido nas plantas expostas nas câmaras de AF e AA não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos em nenhuma das exposições, sendo que o maior acúmulo ocorreu na 2ª exposição (Figura 32-B).

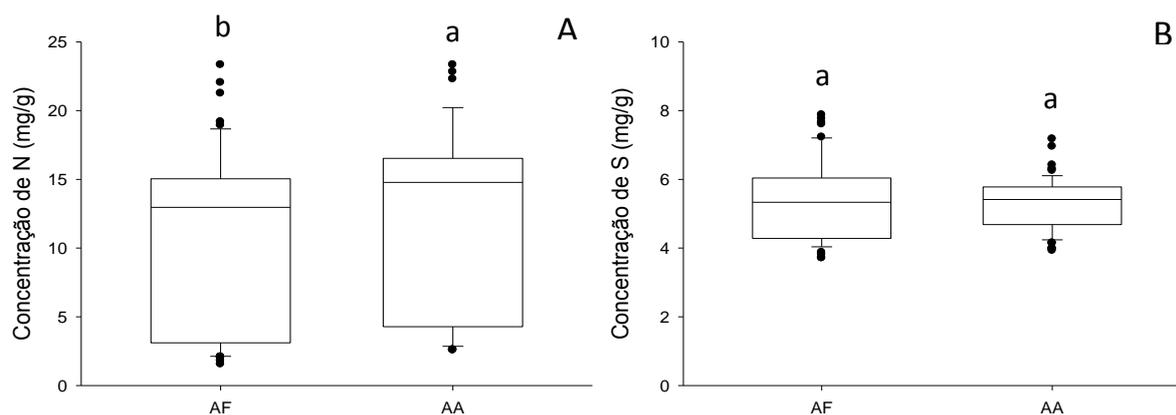
A concentração de nitrogênio nas folhas de plantas expostas aos dois tratamentos foi mais homogênea na 1ª exposição, enquanto nas outras duas exposições os resultados

apresentaram grande variação, o que pode ser observado pela extensão dos box-plots. Na 1ª exposição ambos os tratamentos apresentaram concentrações mais altas, já na 2ª e 3ª exposições as plantas do AF apresentaram menor acúmulo. As plantas expostas no AA apresentaram um mesmo padrão em todas as exposições, sem redução da concentração foliar de N (Figura 32-A).



**Figura 32.** Box plot de conteúdo foliar de nitrogênio (A) e enxofre (B), de plantas jovens de *Psidium guajava* ‘Paluma’ expostas em câmaras de topo aberto com ar filtrado (AF) e com ar ambiente (AA) nas proximidades da refinaria em Cubatão/SP, durante os meses de janeiro/2011 a abril/2011 (1ª exposição), maio/2011 a agosto/2011 (2ª exposição), agosto/2011 a novembro/2011 (3ª exposição). n = 24. Letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre os tratamentos de uma mesma exposição. Letras minúsculas indicam diferenças significativas de um mesmo tratamento em exposições distintas.

Considerando o acúmulo foliar de N obtido durante todo o período de estudo, nota-se que o maior acúmulo ocorreu nas plantas expostas nas câmaras de AA (Figura 33-A). Enquanto o acúmulo foliar de S não diferiu entre os dois tratamentos (Figura 33-B).



**Figura 33.** Box plot de conteúdo foliar de nitrogênio (A) e enxofre (B), de plantas jovens de *Psidium guajava* ‘Paluma’ expostas em câmaras de topo aberto com ar filtrado (AF) e com ar ambiente (AA) nas proximidades da refinaria em Cubatão/SP, durante os meses de janeiro/2011 a novembro/2011. N= 24. Letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os tratamentos.

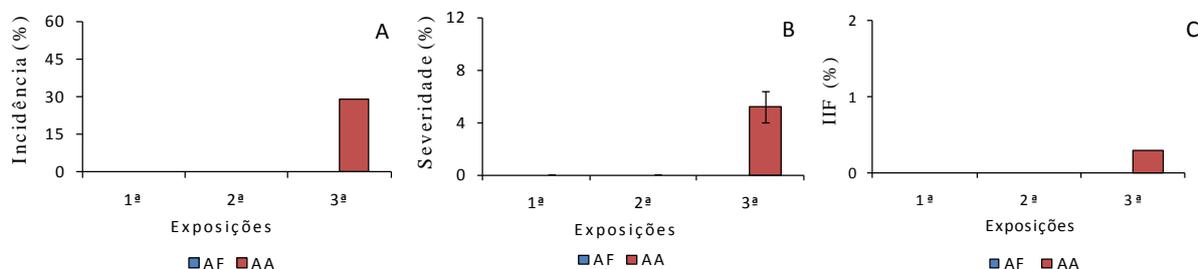
### 3.2.6 Injúrias foliares visíveis

O surgimento de injúrias foliares visíveis ocorreu apenas ao final da 3ª exposição, em plantas que permaneceram expostas em câmaras de AA. Estas injúrias surgiram na superfície adaxial das folhas mais velhas, caracterizadas como pontuações vermelho-amarronzados entre as nervuras. Nota-se que as injúrias estavam acompanhadas de cloroses (Figura 34).



**Figura 34.** Injúrias foliares visíveis semelhantes às induzidas por  $O_3$  em plantas jovens de *Psidium guajava* ‘Paluma’ expostas em câmaras de topo aberto com ar ambiente (AA) no período de agosto/2011 a novembro/2011 (3ª exposição), nas proximidades da refinaria, em Cubatão/SP. Escala: 1 cm.

Os percentuais de incidência (29%) e severidade (5%) obtidos foram baixos, conseqüentemente a estimativa da porcentagem de área foliar ocupada pelos sintomas também foi baixa (0,3), estando estes distribuídos entre as classes 1 (1 – 5%) e 2 (6 – 25%) (Figura 35).

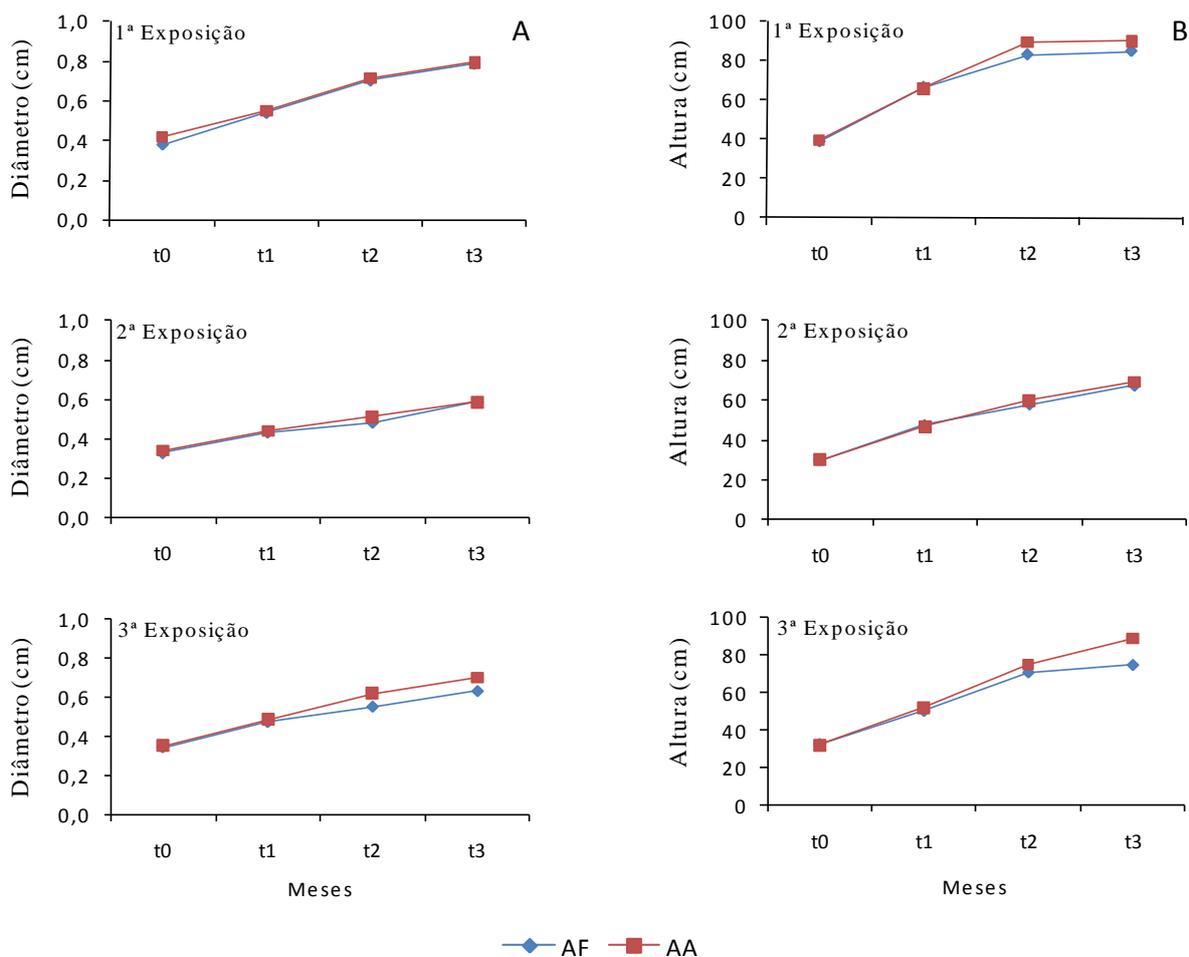


**Figura 35.** Incidência (A), severidade (B) e índice de injúria foliar (C) verificados em indivíduos jovens de *Psidium guajava* ‘Paluma’ expostos em câmaras de topo aberto com ar filtrado (AF) e com ar ambiente (AA), nos meses de janeiro/2011 a abril/2011 (1ª exposição), maio/2011 a agosto/2011 (2ª exposição), agosto/2011 a novembro/2011 (3ª exposição), nas proximidades da refinaria, em Cubatão/SP. n = 24.

### 3.2.7 Parâmetros de crescimento

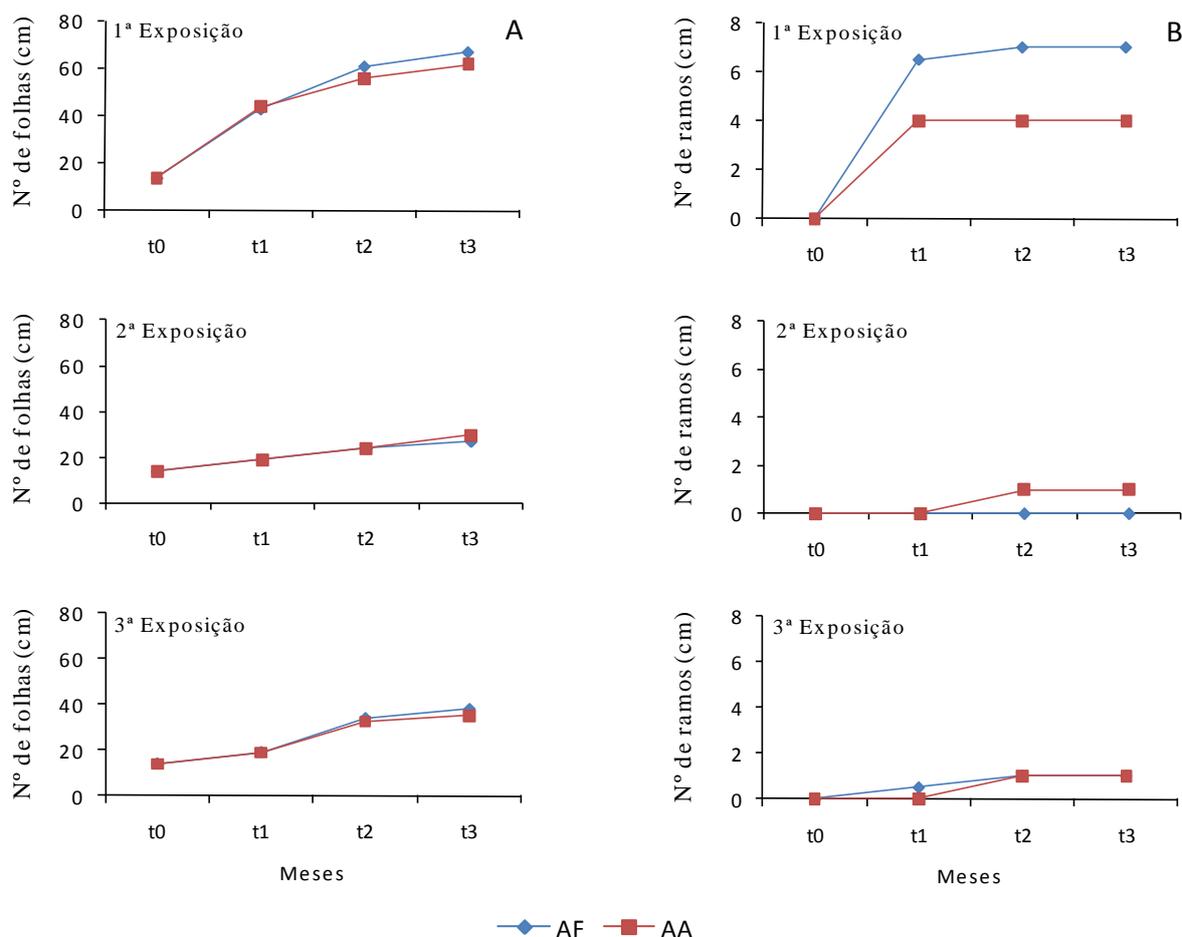
Os resultados de parâmetros de crescimento obtidos em cada período (t0, t1- 4ª semana, t2- 8ª semana e t3- 12ª semana) permitiram visualizar sua progressão e observar o surgimento de tendências desses parâmetros nas plantas expostas nos dois tratamentos (Figura 36 e 37).

Na maioria dos parâmetros as plantas dos dois tratamentos apresentaram um mesmo padrão de crescimento. As plantas expostas nas câmaras de AA apresentaram maior diâmetro, no entanto não foram constatadas diferenças significativas ao final da exposição (Figura 36-A; tabela 12). Quanto à altura (Figura 36-B), tanto na 1ª exposição quanto na 3ª exposição, as plantas expostas nas câmaras de AA foram mais altas, com comprovação estatística (Tabela 12).



**Figura 36.** Valores medianos de crescimento em diâmetro (A) e altura (B), em indivíduos jovens de *Psidium guajava* 'Paluma' expostos em câmaras de topo aberto com ar filtrado (AF) e com ar ambiente (AA), nos meses nos meses de janeiro/2011 a abril/2011 (1ª exposição), maio/2011 a agosto/2011 (2ª exposição), agosto/2011 a novembro/2011 (3ª exposição), nas proximidades da refinaria, em Cubatão/SP. n = 24.

As plantas expostas em câmaras de AF tenderam a apresentar maior número de folhas na 1ª exposição (Figura 37-A), entretanto não houve diferença significativa entre os tratamentos no final da exposição (Tabela 12). Na 1ª exposição, as plantas expostas nas câmaras de AF tenderam a apresentar maior número de ramos, porém não houve diferença estatística. Já na 2ª exposição o surgimento de ramos foi maior nas plantas expostas nas câmaras de AA, obtendo diferença significativa no final da exposição (Figura 37-B; tabela 12).



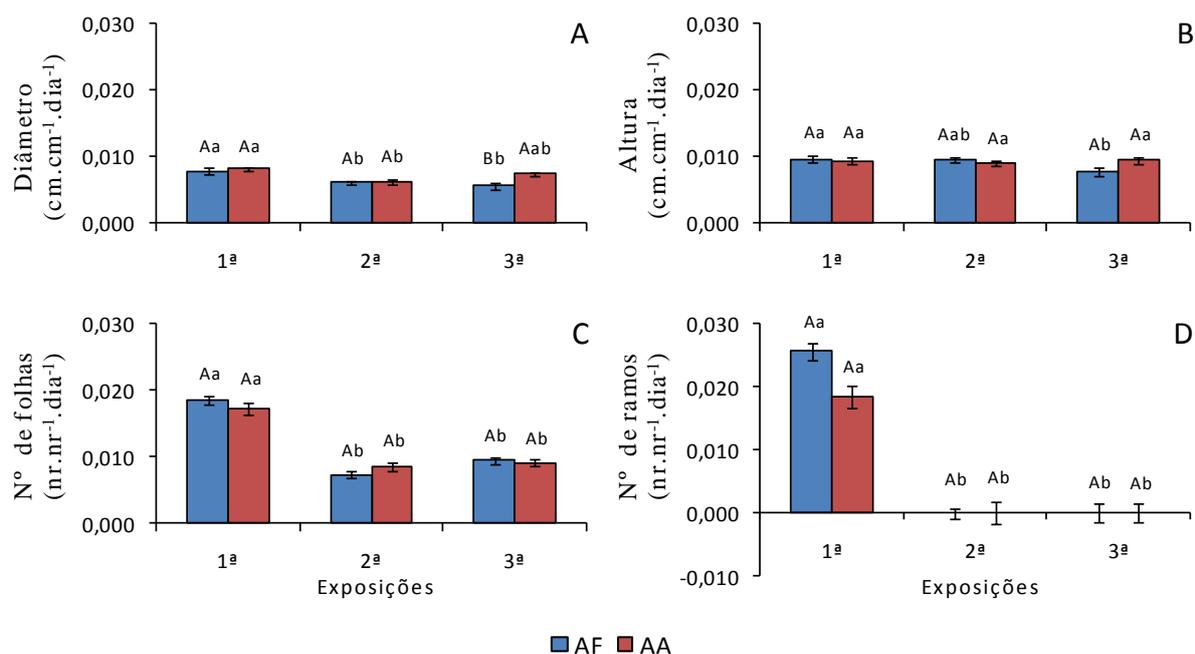
**Figura 37.** Valores medianos de crescimento em número de folhas (A) e número de ramos (B), em indivíduos jovens de *Psidium guajava* ‘Paluma’ expostos em câmaras de topo aberto com ar filtrado (AF) e com ar ambiente (AA), nos meses nos meses de janeiro/2011 a abril/2011 (1ª exposição), maio/2011 a agosto/2011 (2ª exposição), agosto/2011 a novembro/2011 (3ª exposição), nas proximidades da refinaria, em Cubatão/SP. n = 24.

**Tabela 12.** Medianas de crescimento em diâmetro (cm), altura (cm), número de folhas e número de ramos de plantas jovens de *Psidium guajava* ‘Paluma’ expostas em câmaras de topo aberto com ar filtrado (AF) e com ar ambiente (AA), nos meses nos meses de janeiro/2011 a abril/2011 (1ª exposição), maio/2011 a agosto/2011 (2ª exposição), agosto/2011 a novembro/2011 (3ª exposição), nas proximidades da refinaria, em Cubatão/SP, referentes ao final da exposição (t3). Med.= mediana; EP= erro padrão (n = 24). Letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os tratamentos.

	Pontos de Exposição	Diâmetro		Altura		Nº de folhas		Nº de ramos	
		Med.	EP	Med.	EP	Med.	EP	Med.	EP
1ª Exposição	AF	0,79 a	± 0,01	84,8 b	± 2,29	67 a	± 2,60	7,0 a	± 0,68
	AA	0,80 a	± 0,01	90,3 a	± 3,87	62 a	± 3,47	4,0 a	± 0,68
2ª Exposição	AF	0,59 a	± 0,01	67,5 a	± 1,73	27 a	± 1,03	0,0 b	± 0,22
	AA	0,59 a	± 0,01	69,3 a	± 1,90	29 a	± 1,24	1,0 a	± 0,46
3ª Exposição	AF	0,63 a	± 0,02	75,0 b	± 3,26	38 a	± 1,78	1,0 a	± 0,35
	AA	0,70 a	± 0,01	89,0 a	± 3,12	35 a	± 1,47	1,0 a	± 0,41

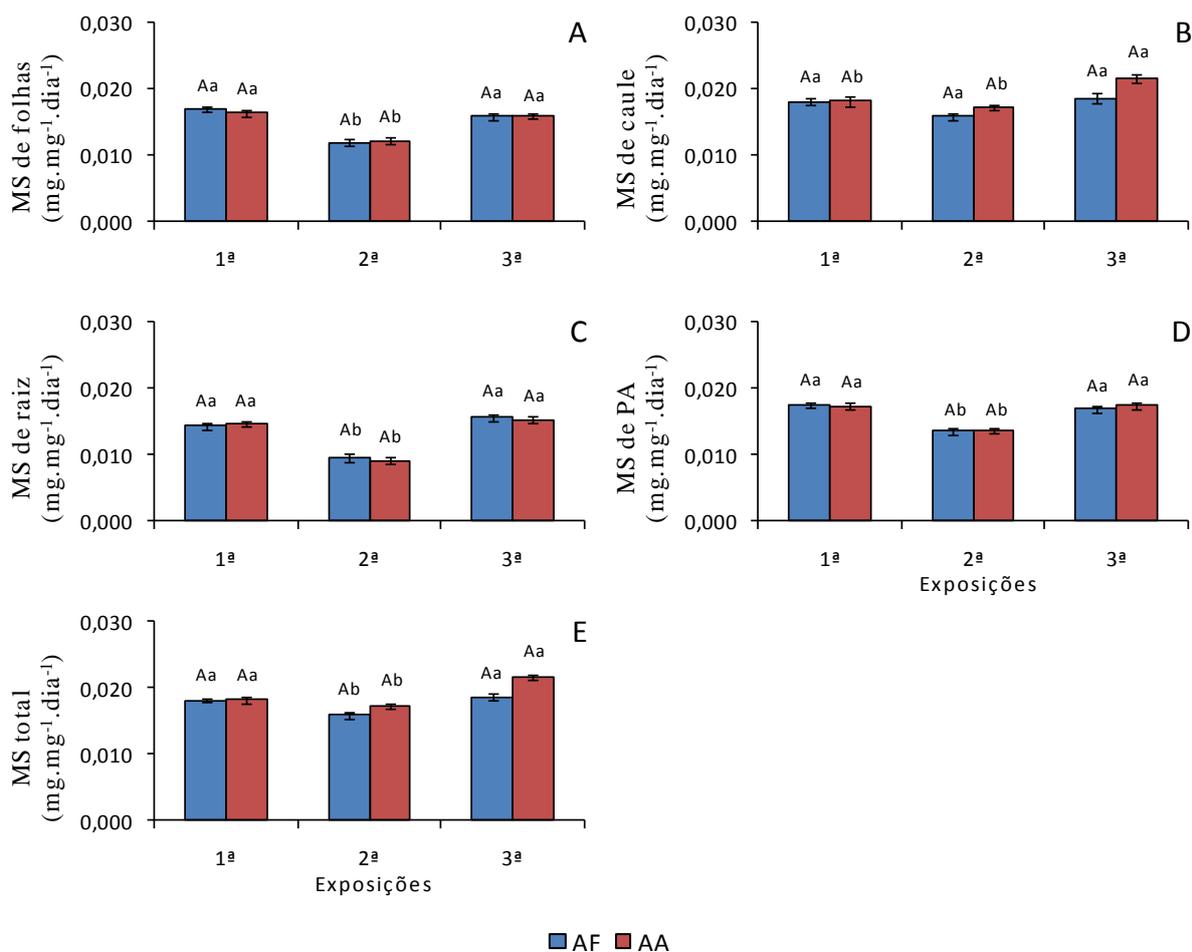
A TCR obtida para o diâmetro apresentou diferença significativa entre os tratamentos apenas na 3ª exposição, mostrando um aumento obtido pelas câmaras de AA (Figura 38 - A).

Quanto à altura, número de folhas e ramos, não houve uma diferença significativa entre os tratamentos. O período mais favorável ao crescimento em diâmetro, número de folhas e número de ramos ocorreu na 1ª exposição, a qual abrange as estações verão e outono (Figura 38).



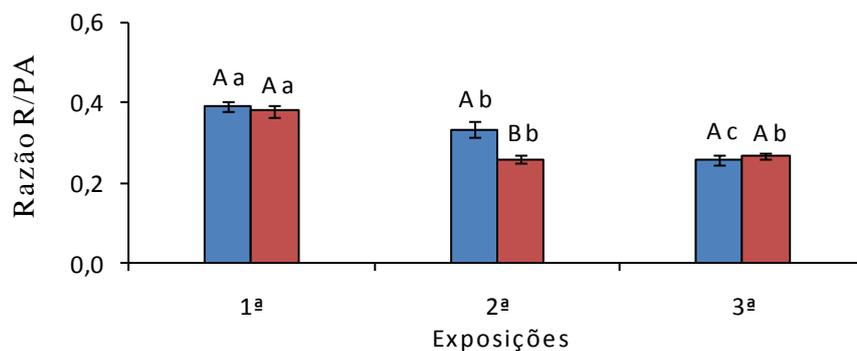
**Figura 38.** Taxa de crescimento relativo em diâmetro (A), altura (B), número de folhas (C) e número de ramos (D) de plantas jovens de *Psidium guajava* ‘Paluma’ expostas em câmaras de topo aberto com ar filtrado (AF) e com ar ambiente (AA) nas proximidades da refinaria em Cubatão/SP, durante os meses de janeiro/2011 a abril/2011 (1ª exposição), maio/2011 a agosto/2011 (2ª exposição), agosto/2011 a novembro/2011 (3ª exposição). Letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre os tratamentos de uma mesma exposição. Letras minúsculas indicam diferenças significativas de um mesmo tratamento em exposições distintas. n = 24.

A TCR obtida para os parâmetros de massa seca mostra que não houve diferenças significativas para nenhum dos parâmetros avaliados (Figura 39). De modo geral, a 2ª exposição, a qual abrange o outono e o inverno, foi o período menos favorável ao crescimento das plantas.



**Figura 39.** Taxa de crescimento relativo em massa seca de folhas (A), caule (B), raiz (C), parte aérea (D) e total de plantas jovens de *Psidium guajava* ‘Paluma’ expostas em câmaras de topo aberto com ar filtrado (AF) e com ar ambiente (AA) nas proximidades da refinaria em Cubatão/SP, durante os meses de janeiro/2011 a abril/2011 (1ª exposição), maio/2011 a agosto/2011 (2ª exposição), agosto/2011 a novembro/2011 (3ª exposição). Letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre os tratamentos de uma mesma exposição. Letras minúsculas indicam diferenças significativas de um mesmo tratamento em exposições distintas. n = 24.

A maior razão raiz/parte aérea foi obtida na 1ª exposição, enquanto as demais exposições apresentaram valores inferiores. Apenas na 2ª exposição as plantas expostas nas câmaras de AF apresentaram maior razão raiz/parte aérea com relação ao outro tratamento (Figura 40).



**Figura 40.** Razão raiz/parte aérea verificados em plantas jovens de *Psidium guajava* 'Paluma' expostos por períodos de aproximadamente 90 dias em câmaras de topo aberto com ar filtrado (AF) e com ar ambiente (AA), nos meses de janeiro/2011 a abril/2011 (1ª exposição), maio/2011 a agosto/2011 (2ª exposição), agosto/2011 a novembro/2011 (3ª exposição), nas proximidades da refinaria, em Cubatão/SP. n = 24. Letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre os tratamentos e letras minúsculas indicam diferenças significativas de um mesmo tratamento nas diferentes exposições.

## 5. Discussão

---

### **5.1 Experimento em condições ambientais**

#### **5.1.1 Condições climáticas e qualidade do ar**

Segundo a CETESB (2011) as concentrações de poluentes atmosféricos na região de Cubatão variam muito ao longo do ano. As concentrações mais baixas costumam ocorrer durante as estações de primavera e verão (outubro a março), quando ocorre maior dispersão de poluentes devido à elevada pluviosidade e maior circulação atmosférica. Normalmente as concentrações mais elevadas ocorrem entre as estações outono e inverno (abril a setembro), quando as constantes inversões térmicas proporcionam maior estabilidade atmosférica tornando este período crítico para a dispersão dos poluentes, principalmente no que se refere emissões de MP, SO<sub>2</sub> e precursores de O<sub>3</sub> como NO e NO<sub>2</sub> (Alonso e Godinho 1992, Klumpp *et al.* 1994, Jaeschke 1997, Domingos *et al.* 1998, CETESB 2011).

Durante este estudo, o período entre maio e setembro de 2010, esteve sob influência do fenômeno La Niña, o que favoreceu o predomínio de massas de ar quente sobre a América do Sul e influenciou na diminuição das precipitações abaixo das normais climatológicas, ocasionando o aumento das temperaturas, diminuição da umidade relativa do ar e a ocorrência de longos períodos de estiagem. Desse modo, o inverno de 2010 esteve entre os mais desfavoráveis à dispersão de poluentes dos últimos 10 anos (CETESB 2011).

Apesar desta agravante meteorológica, as concentrações médias de alguns poluentes, mais especificamente o SO<sub>2</sub> e o NO<sub>2</sub>, parecem menos associadas à sazonalidade do que às alterações no sistema de geração de energia da refinaria, uma vez que a alteração na concentração desses poluentes ocorreu na 4ª exposição, quando a UTE já estava em funcionamento com o auxílio de apenas duas caldeiras.

O SO<sub>2</sub> após o funcionamento da UTE e a desativação de duas caldeiras apresentou redução em suas concentrações, embora as médias horárias atingidas durante todo o período de estudo não tenham ultrapassado o padrão de qualidade do ar para este poluente (média diária de 100 µg m<sup>-3</sup>, Resolução CONAMA 03/1990). Tomando por base os limites de concentração estabelecidos por lei brasileira para proteção da saúde humana, fauna e flora, as médias de SO<sub>2</sub> registradas nos períodos de exposição não são consideradas tóxicas, porém, a concentração média horária de 150 µg SO<sub>2</sub> m<sup>-3</sup>, limite para a proteção de florestas e de espécies arbóreas setentrionais (Erisman *et al.* 1998) foram ultrapassadas várias vezes,

indicando que as plantas expostas nesses locais estiveram sob a influência de concentrações de SO<sub>2</sub> potencialmente fitotóxicas.

O contrário ocorreu para o NO<sub>2</sub>, pois as alterações no sistema de geração de energia da refinaria resultaram em um aumento nas concentrações deste poluente. No entanto, também sem que as médias horárias ultrapassassem o padrão de qualidade do ar, de 190 µg m<sup>-3</sup> (Resolução CONAMA 03/1990). Já as concentrações de NO não apresentaram variabilidade significativa no período de estudo, apenas um aumento foi obtido na 3ª exposição, o que pode ser consequência do período de inverno. Este poluente não possui um padrão de concentração estabelecido. A Organização Mundial da Saúde (WHO 2000) e a União das Nações da Comissão Econômica Européia (UN/ECE 2004) estabeleceram o nível crítico de 75 µg m<sup>-3</sup> de NOx (soma das concentrações médias diárias de NO e NO<sub>2</sub>) para a ocorrência de efeitos adversos à vegetação nativa de regiões com clima temperado, no entanto estes valores também não foram ultrapassados durante o período de estudo. Uma vez que o nitrogênio é um macronutriente especialmente importante às plantas, seus óxidos se tornam fitotóxicos somente quando sua concentração no ar é muito alta (Mansfield 2003). Wellburn (1990), em uma revisão sobre os efeitos do NO e NO<sub>2</sub> em plantas, cita um estudo que identifica uma concentração mínima de cerca de 1.080 µg m<sup>-3</sup> de NO<sub>2</sub> e de 720 µg m<sup>-3</sup> de NO, por 90 minutos, para a ocorrência de inibição na fotossíntese em *Avena sativa* e *Medicago sativa*, cabe lembrar que na presença de outros poluentes a ação fitotóxica do NO<sub>2</sub> é aumentada (Fangmeier *et al.* 2003, Mansfield 2003).

Com isso pode-se concluir que mesmo as concentrações de NO e NO<sub>2</sub> não sendo consideradas tóxicas segundo os padrões citados, estes poluentes podem ter contribuído com efeitos fitotóxicos se considerarmos sua influência na ação conjunta dos poluentes presentes na atmosfera de Cubatão.

O maior problema com relação ao aumento das concentrações desses poluentes está no fato de serem precursores do O<sub>3</sub>. Desse modo o aumento na concentração de NOx, mesmo sem atingir concentrações tóxicas, pode resultar em níveis fitotóxicos de O<sub>3</sub>. Deve-se considerar que a distribuição espacial do O<sub>3</sub> é determinada por reações que promovem sua formação e destruição na atmosfera. Essas reações são condicionadas por fatores climáticos (temperatura, radiação e ventos), topográficos e pela concentração de seus precursores. Assim, a distribuição do O<sub>3</sub> difere dos demais poluentes, pois suas concentrações mais elevadas ocorrem no entorno das regiões urbanas e industriais, distante dos centros emissores de seus precursores. Nas proximidades dos centros urbanos e industriais, as altas emissões de

NO<sub>x</sub> participam dos processos de destruição do O<sub>3</sub>, mantendo níveis relativamente baixos deste poluente (Bermejo *et al.* 2010).

Além disso, a dinâmica de formação de O<sub>3</sub> em Cubatão, também está associada às características de zonas costeiras e montanhosas dessa região. Sanz *et al.* (2002) e Bermejo *et al.* (2010) enfatizam a importância que a brisa marítima tem sobre as concentrações de ozônio. Durante o dia, a brisa transporta os poluentes dos centros industriais e urbanos para adentro do continente, incluindo o NO<sub>2</sub>, os quais por reações fotoquímicas culminam na produção de ozônio, acumulando-se nas camadas mais altas. À noite, a direção da brisa se inverte e a camada de ar enriquecida de O<sub>3</sub> desce em direção ao mar, acumulando sobre certa altitude e também sobre o mar, onde as concentrações de NO<sub>x</sub> são baixas. No dia seguinte, esta camada de ar sobre o mar, enriquecida de ozônio, adentra novamente o continente, estabelecendo um processo recirculatório, que pode durar dias, acarretando em um aumento progressivo de ozônio em elevadas altitudes. O perfil diário das concentrações de ozônio em maiores altitudes difere do encontrado em locais urbanos, apresentando valores mais elevados e uma menor oscilação diária, permanecendo concentrações altas mesmo durante a noite. Essa relação, segundo Fernández (2009), se deve à maior intensidade da radiação solar, favorecendo as reações fotoquímicas e diminuindo os processos de destruição do ozônio, resultando no aumento de suas concentrações.

Com isso, pode-se concluir que as concentrações de O<sub>3</sub> não são homogêneas na área de estudo, o aumento das concentrações de NO<sub>2</sub> registradas no centro da cidade de Cubatão, provavelmente favoreceu a formação do O<sub>3</sub> nas regiões mais distantes, localizadas na direção dos ventos que carregam os poluentes, principalmente no Caminho do Mar (CM1 e CM5), devido à maior altitude, como verificado por Jaeschke (1997).

Segundo a CETESB (2011), os períodos de primavera e verão são os mais propícios para a formação do ozônio devido ao predomínio de elevados níveis de radiação, no entanto, além de um longo período de estiagem, o inverno de 2010 também apresentou vários dias com muitas horas de insolação e altas temperaturas, o que propiciou a formação deste poluente nesta estação.

A concentração de O<sub>3</sub> não apresentou um padrão nítido entre as exposições, e as variações registradas parecem estar mais relacionadas com as condições climáticas. Na 1ª e 6ª exposições apesar de abrangerem os meses de verão, as concentrações de O<sub>3</sub> foram menores, fato que pode estar associado à alta pluviosidade que ocorreu durante estas exposições, as quais foram as mais altas de todo o período de estudo. A chuva pode ter proporcionado a deposição dos poluentes precursores, e, conseqüentemente, diminuiu a formação de ozônio,

além de ter reduzido os períodos com radiação alta. De acordo com Krupa (1997), os níveis de ozônio tendem a atingir a concentração zero durante períodos de chuva, como verificaram em seus estudos Blum *et al.* (1997) e Pudasainee *et al.* (2006). Apesar desta redução, todas as exposições atingiram concentrações médias horárias acima do padrão de qualidade do ar ( $160 \mu\text{g m}^{-3}$ , Resolução CONAMA 03/1990). Estes resultados sugerem que o ozônio esteve presente na atmosfera em concentrações fitotóxicas em todas as exposições.

Considerando as etapas do cronograma da refinaria, as concentrações do  $\text{O}_3$  aumentaram na última etapa (Tabela 6), a qual abrange a 3ª, 4ª, 5ª e 6ª exposições. Neste caso é importante ressaltar que este aumento na última etapa deve-se principalmente ao aumento das concentrações de  $\text{O}_3$  na 4ª e 5ª exposições, uma vez que na 6ª exposição houve uma redução das concentrações. As concentrações medidas posteriormente pela CETESB, durante os experimento nas câmaras de topo aberto, indicam o contrário, ou seja, a utilização do novo combustível correspondeu as concentrações mais baixas deste poluente, e o aumento observado na 4ª e 5ª exposições pode ter sido evento esporádico agravado pelas condições climáticas.

O  $\text{MP}_{10}$  sofreu uma alteração em seu perfil na 6ª exposição o que também pode ser uma resposta às alterações da refinaria, no entanto, mesmo apresentando um aumento das concentrações, não foram registradas ultrapassagens no padrão de qualidade do ar,  $150 \mu\text{g m}^{-3}$  em 24 horas (Resolução CONAMA 03/1990).

Apesar dos dados apresentados, deve-se considerar que as plantas expostas nas encostas da serra, provavelmente estiveram submetidas a concentrações de poluentes mais altas do que as registradas na estação de monitoramento da CETESB. Segundo Jaeschke (1997), medidas de poluentes atmosféricos realizadas pelo LIDAR (Light detection and range) instalado cerca de 80 m acima da planície costeira em um local no Caminho do Mar, mostraram que concentrações muito altas de  $\text{SO}_2$  e  $\text{NO}_x$  ocorriam na altitude de 400 – 500 m do nível do solo. Ou seja, neste experimento provavelmente as maiores concentrações desses poluentes ocorreram nos pontos localizados no Caminho do Mar (CM1 e CM5).

A localização das estações de monitoramento prioriza locais onde há maior concentração de pessoas (Centro de Cubatão) e não exatamente locais onde provavelmente ocorrem as concentrações máximas de poluentes, entre as indústrias e a vegetação que recobre as encostas da Serra do Mar. Deve-se considerar também a localização dos pontos de exposição e suas diferenças climáticas. Os pontos localizados em áreas de vegetação (CM5, CM1 e RP) apresentam temperaturas mais amenas e maior umidade relativa do ar quando comparados com os pontos localizados em área urbana (CEPEMA e Centro). Entretanto, o

ponto CM5 é aquele que mais se diferencia, devido sua localização em maior altitude. O Prof. Dr. J.V. Assunção, da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, mediu a concentração de ozônio nestes pontos por meio de dosímetros passivos em 2010 e obteve as seguintes médias: Pilões  $7 \mu\text{g m}^{-3}$ , CEPEMA  $20 \mu\text{g m}^{-3}$ , Centro  $24 \mu\text{g m}^{-3}$ , CM1  $20 \mu\text{g m}^{-3}$  e CM5  $36 \mu\text{g m}^{-3}$  (com. pessoal). Seus resultados confirmam Pilões como uma área de referência adequada por apresentar apenas concentrações de fundo e o aumento dos níveis de  $\text{O}_3$  nas regiões mais altas da serra.

Como as obras da refinaria, incluindo a construção e operação da UTE, atrasaram muito, não foi possível verificar se as concentrações de  $\text{O}_3$  seriam alteradas quando todas as caldeiras a óleo fossem desligadas, pois essa etapa teve início apenas em dezembro de 2011. Em resumo, observou-se uma nítida redução das concentrações de  $\text{SO}_2$  em conjunto com o aumento dos níveis de  $\text{NO}_2$ . É possível que tenham ocorrido também alterações nas concentrações de compostos orgânicos voláteis e na composição do material particulado, mas esses compostos não são monitorados pela CETESB em Cubatão.

### **5.1.2 Trocas gasosas**

As alterações verificadas no processo fotossintético de *P. guajava* 'Paluma' durante todo o período evidenciaram uma possível influência de poluentes atmosféricos.

As respostas apresentadas pelas plantas permitem diferir dois períodos, os quais coincidem com as alterações no sistema de geração de energia da refinaria e não correspondem às variações sazonais. O primeiro inclui as três primeiras exposições e o segundo, as demais. Uma evidente resposta quanto às variáveis climáticas ocorreu em t1 da 3ª exposição, quando houve uma redução na Asat e gs possivelmente devido à baixa temperatura,  $13 \text{ }^\circ\text{C}$ . Nas demais exposições houve pouca variação na temperatura e, no entanto, foram constatadas diferenças entre os parâmetros de trocas gasosas. Nas três primeiras exposições a Asat foi maior do que nas demais, no entanto, uma mudança mais nítida pôde ser percebida em gs e E. Inicialmente esses parâmetros foram elevados, mas nas duas últimas exposições eles apresentaram uma redução.

Nas três primeiras exposições as plantas apresentaram maior Asat no final da exposição, no entanto, a condutância estomática apresentou grande variação e a transpiração foi elevada. Neste período a geração de energia era realizada por quatro caldeiras a óleo e o perfil de contaminação atmosférica se caracterizou pelas mais altas concentrações de  $\text{SO}_2$  e pelas mais baixas concentrações de  $\text{NO}_2$  e  $\text{O}_3$ .

De acordo com as concentrações dos poluentes avaliados, sugere-se que as respostas das plantas estejam relacionadas com a ação do SO<sub>2</sub>. Neste período as plantas, de modo geral, apresentaram maior Asat, no entanto, a Asat obtida pelas plantas expostas nos pontos mais próximos da refinaria (CM1, CM5 e CEPEMA) foi menor, enquanto a gs e E foram elevadas em todas as plantas. Ou seja, houve reduções na Asat sem alterações em gs e E. As respostas obtidas em gs podem indicar o poluente que estaria exercendo maior influência nas plantas.

Existem evidências de que os poluentes atmosféricos podem afetar os mecanismos de controle estomático, mesmo em concentrações muito baixas. No entanto, as respostas estomáticas a poluentes atmosféricos são complexas, variando entre as características de cada espécie, a concentração dos poluentes e as condições ambientais (McAinsh *et al.* 2002). Além disso, um mesmo poluente pode causar a abertura ou o fechamento dos estômatos em diferentes circunstâncias. Outros estudos também sugerem que os poluentes atmosféricos têm o potencial para influenciar os estômatos de forma direta por meio da redução da capacidade das células-guarda de responder a estímulos (Darrall 1989, Saxe 1990, Wellburn 1990, Mansfield 1998, Robinson *et al.* 1998).

O poluente SO<sub>2</sub> entra na planta principalmente através da abertura estomática. Sob baixas concentrações, este poluente pode induzir a perda de turgescência nas células subsidiárias que estão em contato com as células-guarda, e dessa forma, causar a abertura estomática. Entretanto, altas concentrações de SO<sub>2</sub> no ambiente (acima de 1300 µg.m<sup>-3</sup>) podem ocasionar o fechamento estomático (Larcher 2000, Legge & Krupa 2003). Esse comportamento, provavelmente, explica as observações conflitantes, em alguns casos ocorrendo o aumento da transpiração, em outros uma redução das trocas gasosas. O mesmo foi observado por Darrall (1989), destacando a capacidade do SO<sub>2</sub> em danificar as células subsidiárias, promovendo a abertura estomática. Baixas concentrações de SO<sub>2</sub> em conjunto com o O<sub>3</sub> também podem levar à abertura estomática ou prejudicar o fechamento estomático. Já o fechamento estomático tem sido uma resposta obtida apenas em concentrações mais elevadas destes poluentes (McAinsh *et al.* 2002).

Legge & Krupa (2003) indicam que concentrações menores que 134 µg.m<sup>-3</sup>, em exposições de curta duração, resultam em aumento da gs, no entanto exposições mais longas com concentrações mais elevadas causam fechamento parcial dos estômatos. Em geral exposições crônicas ao SO<sub>2</sub> resultam na redução da fotossíntese. Pinzón-Torres (2008), em experimento realizado com *Centrolobium tomentosum* (Araribá) constatou que esta espécie foi capaz de resistir a altas concentrações de SO<sub>2</sub> sem apresentar queda acentuada da Asat ou sintomas foliares visíveis. As reduções em Asat, gs e E só foram observadas após a aplicação

da concentração de  $259 \text{ mg}(\text{SO}_2)\text{m}^{-3}$ . Concentrações abaixo desta proporcionaram aumento em gs, implicando em considerável entrada de  $\text{SO}_2$  no mesofilo, o que ocasionou declínios de E e Asat.

Estes estudos, ao constatarem aumentos da gs por influência do poluente  $\text{SO}_2$ , apóiam a idéia de que as plantas estiveram sob maior influência do poluente  $\text{SO}_2$  na 1ª e 2ª etapas do cronograma da refinaria. Apesar das concentrações médias não atingirem níveis muito altos, as máximas foram bastante elevadas, atingindo concentrações fitotóxicas (Erisman *et al.* 1998), o que provavelmente indica que as plantas estiveram sob a influência de exposições agudas deste poluente. Desse modo, pode ter ocorrido danos aos estômatos nestas exposições em resposta à presença de  $\text{SO}_2$ , o que promoveu uma alta variabilidade na condutância estomática.

Na região de Cubatão, Moraes *et al.* (2000) não observaram correlações significativas entre a concentração de N e a taxa de fotossíntese líquida, mas encontraram correlação negativa entre o S e as taxas fotossintéticas líquidas, comprovando a toxicidade deste poluente.

A redução do Asat devido à influência do  $\text{O}_3$  nesta primeira etapa do cronograma da refinaria, não é tão evidente. Os efeitos do  $\text{O}_3$  e do estresse oxidativo, são igualmente complexos, no entanto, a exposição ao ozônio, independente do período de exposição e da concentração do poluente, parece estimular a redução da gs (McAinsh *et al.* 2002).

As reduções em gs foram obtidas nas duas últimas exposições, as quais estiveram acompanhadas por reduções tanto na Asat, como na transpiração. Neste período a UTE estava em funcionamento com auxílio de apenas duas caldeiras a óleo, o perfil de contaminação atmosférica estava caracterizado pela redução nas concentrações de  $\text{SO}_2$  e pelo aumento das concentrações de  $\text{NO}_2$  acompanhado do aumento das concentrações de  $\text{O}_3$  ao menos nas 3ª, 4ª e 5ª exposições. Desse modo, a menor condutância estomática obtida nestas exposições sugere uma maior influência do  $\text{O}_3$ .

O ozônio afeta os processos fisiológicos das plantas através de mecanismos diretos ou indiretos e o grau de sensibilidade das células que compõe os tecidos foliares vai depender da quantidade efetiva de poluente, bem como da capacidade das células em restaurar o equilíbrio homeostático (Cho *et al.* 2011). Reduções na condutância estomática (gs), na assimilação líquida de  $\text{CO}_2$  e na eficiência de carboxilação têm sido associadas com a exposição ao  $\text{O}_3$  (Guidi *et al.* 2001, Morgan *et al.* 2003). Ou seja, este poluente apresenta capacidade de danificar ou inibir todas as etapas da fotossíntese, desde a captura de luz até o acúmulo de carboidratos (Farage *et al.* 1991, Pell *et al.* 1994).

Alterações nas trocas gasosas decorrentes do estresse oxidativo induzido por O<sub>3</sub> em plantas foram relatadas em diversos estudos (EPA 2006). Este poluente é muito reativo e após entrar na folha se dissocia rapidamente dando origem às espécies reativas de oxigênio, que, se em excesso, apresentam ação deletéria oxidando moléculas biológicas como proteínas, aminoácidos, lipídeos, ácidos nucleicos e levando à produção de outras EROs (Blokhina *et al.* 2003, Halliwell 2006, Halliwell & Gutteridge 2007). Como consequência, as plantas apresentam redução da assimilação de CO<sub>2</sub> e da condutância estomática (Schaub *et al.* 2003, Novak *et al.* 2005). Contudo a sequência de eventos no aparato fotossintético ainda não está clara. Enquanto algumas pesquisas indicam que inicialmente ocorre uma redução na condutância, com a consequente redução na assimilação devido uma redução da concentração interna de CO<sub>2</sub> (Kitao *et al.* 2009), outras indicam que a fixação de CO<sub>2</sub> é inicialmente afetada seguindo-se da redução na condutância (Farage *et al.* 1991).

Reduções concomitantes de gs e Asat indicam que gs pode ter contido a absorção de CO<sub>2</sub> contribuindo para a diminuição de Asat, porém a diminuição também pode ter sido resultado de processos menos eficientes de carboxilação devido a um dano causado por O<sub>3</sub> na síntese ou na atividade da Rubisco que pode preceder as respostas dos estômatos. Segundo Paoletti (2005), o fechamento estomático não é uma resposta direta do efeito do O<sub>3</sub>, mas uma reação a um aumento do carbono interno. Alguns experimentos realizados sugerem que a sequência de alterações se inicia com uma perda da atividade e síntese da Rubisco (Farage *et al.* 1991, Farage & Long 1999, Nouchi 2002, Zheng *et al.* 2002). Conseqüentemente, pode ocorrer um declínio da condutância estomática como um efeito secundário ao ozônio (Bortier *et al.* 2000). Segundo Pell *et al.* (1994) de todos os processos da fotossíntese a carboxilação é a mais sensível aos efeitos do O<sub>3</sub>.

A exposição das espécies *Caesalpineia echinata*, *Tibouchina pulchra* e *Psidium guajava* ‘Paluma’ em câmaras de fumigação de O<sub>3</sub> resultou em reduções em todos os parâmetros de trocas gasosas, incluindo Asat, gs e E. *Psidium guajava* ‘Paluma’, devido ao seu rápido crescimento, foi a planta que apresentou maior Asat, gs e E em relação às outras espécies, e suas reduções foram menos intensas após a fumigação. Desse modo, esta espécie foi descrita como a mais resistente, enquanto a *Caesalpineia echinata* foi a mais sensível (Moraes *et al.* 2004, 2006). *Psidium guajava* ‘Paluma’ quando exposta ao O<sub>3</sub> na cidade de São Paulo apresentou um declínio em todos os parâmetros de trocas gasosas, mas a redução da gs foi considerada como uma resposta ao aumento das concentrações de carbono interno, possivelmente devido a uma perda da atividade e síntese da Rubisco (Pina & Moraes 2010, Pina 2010).

Em geral, e na maior parte das modelagens fisiológicas, assume-se que a abertura estomática é fortemente acompanhada pela fotossíntese e governada pela concentração interna de gás carbônico (Grulke *et al.* 2007). Sendo assim, de acordo com as respostas obtidas por esta mesma espécie em outros experimentos citados acima, pode-se sugerir que as reduções concomitantes de Asat e gs obtidas neste presente estudo também possam estar relacionadas com a alteração na atividade e síntese da Rubisco, o que resultou no acúmulo de carbono interno seguido de um fechamento estomático como um efeito secundário.

Na 3ª etapa do cronograma da refinaria, as plantas expostas em todos os pontos responderam quanto aos efeitos do O<sub>3</sub> com uma redução em todos os parâmetros fotossintéticos, no entanto as plantas expostas nos pontos mais distantes da refinaria, Centro e RP, apresentaram menor redução em Asat. O inverso ocorreu com as plantas expostas nos pontos mais próximos da refinaria, CM1, CM5 e CEPEMA, sendo que as plantas do CEPEMA foram as que apresentaram menor Asat mais frequentemente.

Esta resposta obtida pelas plantas do CEPEMA provavelmente pode ser resultado da influência de outro fator que possa ter intensificado os efeitos provocados pelo O<sub>3</sub> ou outro poluente oxidante não monitorado. Além da ação dos poluentes na redução da Asat, deve-se considerar que estas plantas estiveram sob menor influência de sombreamento. Desse modo, a ação dos poluentes em conjunto com uma elevada radiação pode ter ocasionado a fotoinibição.

A fotoinibição decorre da exposição a níveis de energia luminosa que excedem a capacidade de dissipação fotoquímica, ocasionando a inativação dos centros de reação do fotossistema II, o aumento na dissipação de energia térmica, a produção de espécies reativas de oxigênio e, em último caso, danos no aparato fotossintético (Taiz & Zeiger 2009). Uma vez que o ozônio afeta a atividade da Rubisco, reduzindo a eficiência de carboxilação há o acúmulo de energia de excitação, o qual pode ultrapassar os mecanismos de dissipação de energia existentes nos cloroplastos levando à fotoinibição (Guidi *et al.* 2002 Castagna *et al.* 2001, Ort 2001). Desse modo, os efeitos do O<sub>3</sub> na fluorescência da clorofila *a* podem ser interpretados como uma regulação do transporte de elétrons para compensar a redução da atividade do ciclo de Calvin-Benson (Guidi *et al.* 2001, Heath 2008), uma vez que a etapa fotoquímica é considerada como a mais estável sob condições de exposição ao O<sub>3</sub> (Heath 1994).

A ocorrência de fotoinibição em plantas de *P. guajava* 'Paluma' expostas no CEPEMA seria intensificada pela redução na assimilação de CO<sub>2</sub> ocasionada pela presença do O<sub>3</sub>. Corroborando esta hipótese, Guidi *et al.* (2002) observaram que indivíduos jovens de

*Phaseolus vulgaris* 'Pinto', expostos concomitantemente aos tratamentos de fumigação com ozônio e alta intensidade luminosa, apresentaram maior redução na assimilação de CO<sub>2</sub> do que aqueles indivíduos que permaneceram expostos aos tratamentos separadamente. Takagi & Gyokusen (2004), observaram maior Asat em árvores expostas em locais poluídos com menor condição de luz e uma redução da Asat em árvores expostas em locais distantes da poluição, porém em condições de pleno sol. A análise de correlação, neste caso, mostrou que a taxa fotossintética foi negativamente correlacionada com maiores condições de luz.

Contudo, apesar das evidências de que as plantas expostas no CEPEMA tenham apresentado fotoinibição, não foram realizadas análise de fluorescência para verificar tal possibilidade.

Embora maior ênfase tenha sido dada ao poluente O<sub>3</sub> na 3ª etapa, observa-se que houve reduções em Asat na 6ª exposição mesmo sendo constatada uma queda na concentração deste poluente neste período. Neste caso, sugere-se que o poluente O<sub>3</sub> não esteja atuando sozinho.

O aumento nas concentrações de NO<sub>2</sub> também deve ser considerado, principalmente com relação às máximas atingidas. Segundo Fangmeier *et al.* (2003) altas concentrações de O<sub>3</sub> e NO<sub>2</sub> durante um curto período (exposição aguda) podem resultar em sinergismo. Além disso, alguns trabalhos (Nussbaum *et al.* 1999, Wellburn 1990, 1998, Lea 1998) têm relatado os efeitos tóxicos do NO<sub>2</sub> sob concentrações elevadas, supondo que estes efeitos também ativam os mesmos antioxidantes que estão envolvidos na defesa contra O<sub>3</sub>, (Sigwolf *et al.* 2001). Em resumo, o NO<sub>2</sub> também pode estar induzindo as plantas ao estresse oxidativo.

Cabe lembrar que as plantas de *P. guajava* 'Paluma' podem ter sido expostas a outros poluentes não monitorados, como compostos orgânicos voláteis, materiais particulados com composição variada, sendo frequentes em Cubatão a adsorção de sulfatos e de metais pesados, os quais também podem ter agido no presente caso. Este resultado mostra que além dos poluentes monitorados, a concentração de outros poluentes, como os COVs pode ter sido alterada com a troca de combustível.

As respostas obtidas quanto às trocas gasosas, sugerem que os poluentes estão presentes em todos os pontos de exposição, porém sua influência é mais efetiva nas plantas que permanecem nas regiões mais próximas da refinaria. A interpretação dos resultados deve levar em consideração que baixas e altas concentrações de um mesmo poluente podem produzir respostas contrastantes, além do que muitos fatores influenciam os impactos dos poluentes atmosféricos sobre os estômatos, incluindo a interação entre os poluentes e as condições climáticas (Robinson *et al.* 1998). Os efeitos da combinação de vários poluentes

podem ser intensificados ou minimizados, assim como, também podem apresentar uma resposta antagônica (McAinsh *et al.* 2002).

### 5.1.3 Injúrias Foliare Visíveis

As injúrias foliares observadas em *P. guajava* 'Paluma' expostas no entorno da refinaria podem ser consideradas como induzidas pelo ozônio, uma vez que obedecem a todos os critérios descritos na literatura de referência: são pontuações vermelho-amarronzadas que não cobrem nervuras e se manifestam inicialmente na superfície adaxial do limbo das folhas mais velhas (Sanz *et al.* 2002, Novak *et al.* 2003).

As injúrias foliares também foram semelhantes às verificadas por Furlan *et al.* (2007) em experimento realizado com a mesma cultivar em condições semi-controladas com fumigação em câmaras de topo aberto, estudo que definiu esta espécie como bioindicadora de O<sub>3</sub>. As mesmas características foram encontradas em condições de campo por Pina & Moraes (2007, 2010) e Dias *et al.* (2007).

Estudos mostram que as injúrias decorrentes da exposição ao O<sub>3</sub>, como estas que ocorrem em *Psidium guajava* 'Paluma' são pigmentações, o que constitui uma forma de injúria crônica resultante da formação e acúmulo de compostos fenólicos dentro da célula viva, não ocasionando o surgimento de necroses (Krupa & Manning 1988, Heath *et al.* 2009), como comprovado por Tresmondi & Alves (2011) em estudo com 'Paluma'. Rezende & Furlan (2009) encontraram aumento significativo de antocianina em folhas dessa cultivar fumigadas com O<sub>3</sub>, relacionando essa alteração ao aparecimento de sintomas visíveis nas folhas analisadas. Tresmondi & Alves (2011) com base em estudos anatômicos mostraram que em folhas assintomáticas de *P. guajava* 'Paluma' compostos fenólicos estão presentes em todas as camadas do mesofilo e em células epidérmicas, entretanto em folhas sintomáticas, além destes compostos, a presença de antocianina foi observada, estando esta acumulada nos estratos superiores do mesofilo, indicando que a antocianina é a principal responsável pelos sintomas visíveis que esta planta apresenta.

As antocianinas têm sido relacionadas com a tolerância a diversos tipos de estresse, como seca, metais pesados e resistência a herbívoros. A antocianina e outros compostos fenólicos podem atuar como antioxidantes não enzimáticos, neutralizando espécies reativas de oxigênio formadas a partir do O<sub>3</sub>, o que confere à planta proteção contra este poluente (Gould 2004).

Alguns autores classificam a manifestação de cloroses e necroses foliares induzidas por ozônio como injúria foliar e a pigmentação (ou "reddening") como sintoma foliar (De Temmerman *et al.* 2004, Dizengremel *et al.* 2008), enquanto outros autores classificam todos esses três tipos de manifestação como injúria (Heath *et al.* 2009). O acúmulo de antocianina induzido por ozônio nas folhas de *Psidium guajava* 'Paluma' seria melhor caracterizado como um sintoma foliar do que como uma injúria. Contudo, embora não haja perda de clorofila ou morte celular, em longo prazo os processos bioquímicos desencadeados pelo ozônio em 'Paluma' implicariam em um custo metabólico, ou seja, um maior gasto de energia para reparos pode reduzir a energia necessária para o crescimento normal, por exemplo (Saleem *et al.* 2001). Considerando os efeitos em longo prazo, neste estudo o acúmulo de antocianina induzido por O<sub>3</sub> foi considerado como "injúria".

Os maiores IIF ocorreram na 3<sup>a</sup>, 4<sup>a</sup> e 5<sup>a</sup> exposições, período em que as concentrações de O<sub>3</sub> foram mais altas. Na 1<sup>a</sup> exposição, quando as concentrações foram mais baixas, não foi verificada a manifestação de injúrias foliares visíveis, apesar das estações primavera e verão serem propícias à formação do O<sub>3</sub> devido a elevada radiação. Na 6<sup>a</sup> exposição houve uma redução nas concentrações de O<sub>3</sub>, conseqüentemente foram obtidos índices de injúria foliar mais baixos do que os anteriores.

O maior IIF foi obtido pelas plantas que permaneceram expostas no CM5, fato que pode estar relacionado com altitude em que se encontra este ponto de exposição. Saitanis *et al.* (2002), ao trabalharem com duas variedades de tabaco (Bel-W3 e Zichonomirodata), observaram que os sintomas mais severos foram vistos em locais mais distantes das fontes poluidoras e em locais de maior altitude, relatando a existência de uma relação entre injúrias mais severas e a elevação da altitude. Essa relação, segundo Fernández (2009), se deve à maior intensidade da radiação solar, favorecendo as reações fotoquímicas e diminuindo os processos de destruição do ozônio, resultando no aumento de suas concentrações. Adicionando-se a isso, Sanz *et al.* (2002) e Bermejo *et al.* (2010) enfatizam a importância que a brisa marítima tem sobre as concentrações de ozônio em zonas costeiras e montanhosas, como já foi descrito.

O surgimento de injúrias foliares induzidas por ozônio não depende apenas da sua concentração na atmosfera, este poluente precisa ser absorvido pelas plantas através dos estômatos, desencadeando processos fisiológicos, os quais poderão resultar na manifestação de sintomas foliares visíveis. Entretanto, fatores ambientais como a umidade do ar, temperatura, déficit de pressão de vapor, umidade do solo, velocidade dos ventos, irradiância ao intervirem na condutância estomática, acabam por determinar uma maior ou menor

absorção do O<sub>3</sub> pelas plantas e, conseqüentemente, interferem na manifestação dos sintomas foliares visíveis (Peñuelas *et al.* 1999, Schaub *et al.* 2003, Novak *et al.* 2003, Manning 2003, EPA 2006, Klumpp *et al.* 2006, Heath *et al.* 2009).

Paralelamente a este estudo, outro experimento de biomonitoramento foi realizado, utilizando a espécie *Nicotiana tabacum* – Bel-W3 (Tabaco). Esta é uma espécie bioindicadora de O<sub>3</sub> padronizada (VDI 2003), a qual manifesta injúrias foliares visíveis muito características e vem sendo empregada há várias décadas no mapeamento da distribuição geográfica de concentrações fitotóxicas de O<sub>3</sub> no mundo todo (Heggestad 1991, Krupa *et al.* 2001, Klumpp *et al.* 1994, Klumpp *et al.* 2006).

Por ser uma espécie muito sensível, *N. tabacum* Bel-W3, manifestou injúrias foliares mesmo em baixas concentrações de O<sub>3</sub>, e conseqüentemente, obteve IIF muito mais elevados do que *P. guajava* ‘Paluma’. Além disso, mesmo em exposições mais curtas, de apenas 15 dias enquanto as de Paluma foram de 90, *N. tabacum* Bel-W3 apresentou injúrias foliares induzidas por O<sub>3</sub> em todos os pontos de exposição durante todo o período de estudo. Já *P. guajava* ‘Paluma’ apresentou injúrias foliares apenas uma vez na área de referência, não apresentando injúrias foliares nas plantas expostas no Centro.

O experimento com *N. tabacum* Bel-W3 confirma que as injúrias foliares observadas em *P. guajava* ‘Paluma’ foram induzidas por O<sub>3</sub>. Confirma, também, que este poluente está presente em concentração fitotóxica em todos os pontos de exposição, inclusive na área referência e no Centro. Os maiores IIF foram obtidos pelas plantas de *N. tabacum* Bel-W3 expostas no Caminho do Mar, enquanto os menores foram obtidos pelas plantas expostas no CEPEMA, Centro e RP (área referência), o mesmo resultado foi observado por Klumpp *et al.* (1994) com esta mesma espécie.

As plantas de ‘Paluma’ mantidas no CEPEMA, em três exposições, apresentaram IIF maior do que as plantas do CM1, o que pode estar relacionado com as condições climáticas do local. A elevada temperatura e a menor influência de sombreamento podem ter deixado as plantas mais suscetíveis ao estresse induzido por O<sub>3</sub>, favorecendo o surgimento de injúrias foliares visíveis.

Pela primeira vez a espécie *P. guajava* ‘Paluma’ foi exposta em regiões industriais. Até então, suas exposições foram realizadas em experimentos controlados com fumigação de O<sub>3</sub> ou em condições de campo, em áreas urbanas na cidade de São Paulo (Pina & Moraes 2007, 2010, Pina 2010, Tresmondi & Alves (2011)). Os resultados destes experimentos evidenciaram que *P. guajava* ‘Paluma’ é uma espécie bioindicadora de ozônio eficiente, apresentando respostas com significado biológico para a vegetação nativa. Entretanto, em

áreas industriais o IIF obtido por essa espécie foi muito baixo e o surgimento dessas injúrias ocorreu após aproximadamente 80 dias. Dessa forma, deve-se considerar que esta espécie não apresenta uma resposta imediata, sendo útil em regiões urbanas ou em regiões que apresentam concentrações de O<sub>3</sub> mais elevadas do que as do entorno da RPBC.

#### 5.1.4 Crescimento

O crescimento de uma planta é uma resposta integrada de muitos fatores presentes no ambiente e não apenas da presença de determinados poluentes. Dessa forma, deve-se considerar que os pontos de exposição apresentam algumas particularidades que podem interferir na resposta das plantas. O crescimento das plantas expostas no entorno da refinaria apresentou alta variabilidade, porém alguns parâmetros apresentaram respostas condizentes com efeitos de poluentes obtidos em outros estudos. Avaliando estas respostas pode-se definir que algumas variações correspondem à sazonalidade e em outros momentos pareciam estar relacionadas ao perfil de contaminação atmosférica.

A 3ª exposição foi o período menos favorável ao crescimento das plantas, possivelmente em resposta ao período de inverno, caracterizado por baixas temperaturas e um longo período de estiagem. No entanto, o final do período de estiagem e o início das chuvas, durante as estações primavera e verão, favoreceram o crescimento das plantas na 5ª exposição.

Assim como a 5ª exposição, a 1ª exposição também abrangeu as estações de primavera e verão, no entanto, o investimento em altura e número de folhas foi menor, com um favorecimento apenas no crescimento radicular. Estes resultados sugerem que possivelmente as plantas apresentaram respostas quanto ao perfil de contaminação atmosférica da 1ª etapa do cronograma da refinaria.

As plantas mais altas estiveram expostas nos locais mais distantes da refinaria, pontos que apresentam menor interferência da poluição, enquanto os menores valores foram obtidos pelas plantas mais próximas da refinaria. Esta resposta foi mais evidente na 1ª e 6ª exposições. O menor crescimento em altura tem sido relatado em outros estudos como uma resposta a ambientes poluídos. Moraes *et. al.* (2000), realizou exposições de plantas jovens de *Tibouchina pulchra* nesta mesma região e também verificou uma redução do crescimento em altura, o mesmo foi obtido por Domingos *et al.* (1998) e Szabo *et al.* (2003). Klumpp *et al.* (1998) também obtiveram a mesma resposta quando realizaram exposições com plantas jovens de *Psidium guajava* e *Psidium cattleianum*. Pompéia (1997) observou que árvores adultas de *Tibouchina pulchra* presentes na região do Caminho do Mar (CM1 e CM5)

apresentaram altura média menor que a de indivíduos da mesma espécie ocorrentes em outras regiões de Cubatão. Esta resposta também foi obtida com plantas jovens de *Caesalpineia echinata* expostas em regiões com maior influência de poluentes na cidade de São Paulo (Cunha 2006). Pandey & Agrawal (1994) observaram o mesmo em plantas utilizadas na arborização de áreas poluídas na Índia.

Na 1ª exposição, o número de folhas foi maior nas plantas expostas nos locais com maior interferência de poluição, CM5 e CEPEMA. Szabo *et al.* (2003) verificaram resposta semelhante em plantas expostas em Cubatão, assim como Cunha (2006) com plantas de *Caesalpineia echinata* expostas na cidade de São Paulo. Pompéia (1997), em estudo de biomonitoramento passivo, ou seja, em que são avaliadas plantas ocorrentes no próprio local de estudo, observou que na floresta da área mais severamente poluída de Cubatão, o vale do rio Mogi, ocorria uma tendência das árvores apresentarem maior número de folhas do que as árvores da área mais abrigada da poluição (vale do rio Pilões). O aumento da produção de folhas em plantas submetidas à poluição aérea pode ser considerado um mecanismo compensatório à antecipação da senescência foliar provocada pelos poluentes (Woodbury *et al.* 1994, Pell *et al.* 1997, Bortier *et al.* 2000, Oksanen 2001). Darral (1989) e Amthor & McCree (1990) sugerem que um maior investimento na produção de folhas também seria uma estratégia da planta para compensar a redução nas taxas de fotossíntese e assim manter as suas taxas de crescimento.

O aumento das ramificações tem sido verificado com frequência em plantas expostas à presença de poluentes na atmosfera (Pompéia 1997). No presente estudo, este aumento ocorreu principalmente no inverno, nas plantas expostas mais próximas da refinaria, CM1, CM5 e CEPEMA. Domingos *et al.* (1998) e Szabo *et al.* (2003) também verificaram aumento na ramificação em plantas jovens de *Tibouchina pulchra* expostas nas regiões de Cubatão. Pompéia (1997) verificou aumento da ramificação lateral em indivíduos adultos de diversas espécies arbóreas ocorrentes nas regiões de Cubatão próximas à refinaria, e atribuiu este fato ao estresse provocado pela poluição sobre a gema apical, resultando em redução da dominância apical, o que pode ter ocorrido no presente estudo, principalmente nas plantas expostas no CM1 e CM5. Desse modo, o menor crescimento em altura somado ao aumento da ramificação lateral modificou a arquitetura dessas plantas, com muitas apresentando aspecto arbustivo ao final da exposição como descrito por Moraes 1999, Moraes *et al.* 2003 e Cunha 2006.

Quanto à razão raiz/parte aérea, verificou-se um aumento em plantas expostas em locais com maior influência da poluição aérea, resultado oposto ao obtido em experimentos

semelhantes a este. Estudos realizados com plantas jovens de *Tibouchina pulchra* expostas na região do Caminho do Mar em Cubatão relataram uma evidente redução nesta razão ocasionada por uma diminuição na biomassa de raiz (Moraes *et al.* 2000, Klumpp *et al.* 2000, Szabo *et al.* 2003). Resultado similar foi obtido com plantas jovens de *Psidium guajava* expostas na mesma região (Klumpp *et al.* 1998, Moraes *et al.* 2002). Desse modo, o menor incremento do sistema radicular tem sido considerado um indicador sensível de estresse por poluição. Resultado oposto foi obtido em estudo realizado com *Caesalpineia echinata*, a qual apresentou restrição em massa seca de raiz somente após 15 meses de exposição na cidade de São Paulo, não apresentando um padrão nítido nos valores da razão raiz/parte aérea, com uma tendência de menores valores nas plantas mantidas em casa de vegetação com ar filtrado (Cunha 2006). Moraes *et al.* (2006), também com *Caesalpineia echinata* não observaram diferenças na partição de carbono entre raiz e parte aérea após fumigação com O<sub>3</sub>.

De modo geral pode-se observar que as respostas obtidas com relação à razão raiz/parte aérea na 1ª exposição diferiram das respostas obtidas nas demais exposições. Considerando as alterações no cronograma da refinaria, é possível sugerir que estes resultados estejam relacionados com o aumento das concentrações de NO<sub>2</sub>. Este poluente estimula o investimento na assimilação de carbono promovendo maior acúmulo de biomassa, no entanto, este investimento vem acompanhado de um declínio na biomassa de raiz. Ou seja, as plantas apresentam menor alocação de biomassa para as raízes em relação a que foi alocada para a parte aérea (Siegwolf *et al.* 2001). Efeito semelhante parece ter ocorrido com as plantas a partir da 3ª exposição, quando a biomassa de raiz foi reduzida em comparação com os resultados obtidos na 1ª exposição. A diminuição da biomassa de raiz resultou em uma redução da razão raiz/parte aérea.

Elevadas concentrações de poluentes podem resultar em menor aquisição de biomassa, porém baixas concentrações podem contribuir para o crescimento (Welburn 1990). Este fato pode estar relacionado com o maior acúmulo de biomassa das plantas expostas no CEPEMA. Nitrogênio e enxofre são macronutrientes e sua deposição atmosférica pode ocasionar um efeito benéfico sobre o crescimento de plantas jovens, como tem sido relatado em outros estudos (Klumpp *et al.* 1997, Legge & Krupa 2003, Mansfield 2003), em que concentrações aéreas de N e de S podem ter um efeito fertilizante. A maior biomassa total obtida pelas plantas expostas no CEPEMA pode ser uma resposta a presença principalmente do N, uma vez que este ponto também recebe influencia de emissões veiculares de NO<sub>2</sub> oriundas uma rodovia de alta circulação localizada nas suas proximidades (Rodovia Cônego Domênico Rangoni). O NO<sub>2</sub> entra no interior da folhas principalmente através das aberturas estomáticas,

e quando em contato com água presente nos espaços intercelulares é dissociado formando íons que podem ser utilizados pela planta como fonte de nitrogênio na síntese protéica (Larcher 2000).

Assim, o NO<sub>2</sub> atmosférico é uma fonte de nitrogênio para as plantas. De modo geral, este poluente apresenta baixa toxicidade para as plantas, ocorrendo frequentemente junto com outros poluentes mais fitotóxicos (De Temmerman *et al.* 2004). Os efeitos do NO<sub>2</sub> podem ser observados somente quando as plantas são expostas a concentrações muito elevadas, como foi relatado por Zeevaart (1974) e Donagi & Goren (1979). O NO<sub>2</sub> absorvido através das aberturas estomáticas e utilizado como fonte de nitrogênio representa um aporte adicional deste elemento para as plantas podendo reverter em incremento de biomassa (Larcher 2000, Siegwolf *et al.* 2001).

As plantas expostas no CM5 apresentaram menor biomassa total, e este resultado pode estar relacionado tanto à concentração de poluentes como às suas peculiaridades climáticas, climatológicas. Por estar localizado em uma altitude mais elevada, as plantas deste ponto estiveram expostas a ventos constantes e temperaturas mais baixas, fatores que dificultam o crescimento. Klumpp *et al.* (1998) também levam em consideração a altitude na interpretação dos seus resultados. Adicionalmente, por estarem em maior altitude, as plantas deste ponto estiveram sob maior influência do poluente O<sub>3</sub>. O estresse oxidativo pode ser o responsável pela redução no crescimento.

Os resultados obtidos com as análises de crescimento têm demonstrado alta variabilidade, diferindo de um estudo para o outro. Este fato pode estar relacionado com as diferenças na concentração, duração e frequência da exposição aos poluentes atmosféricos e também à resistência da planta à poluição. Desse modo, torna-se difícil determinar quais foram os fatores responsáveis pela diferença entre as respostas apresentadas pelas plantas nos diferentes locais e entre os períodos de exposição, impossibilitando comparações mais estreitas com estudos anteriores.

De acordo com Mooney e Winner (1988), o estresse ocasionado pelos poluentes faz com que as plantas invistam o carbono assimilado em manutenção e desintoxicação, diminuindo o carbono disponível para o crescimento. Neste estudo apenas alguns parâmetros de crescimento apresentaram alterações, que possivelmente possam estar relacionadas com o perfil de contaminação, mas a análise conjunta deixa claros alguns aspectos.

A análise de componentes principais mostrou de forma nítida que as respostas obtidas pela *P. guajava* 'Paluma' foram associadas à troca de combustível da refinaria (Figura 25), pois as unidades amostrais do período com predomínio de caldeiras a óleo foram claramente

separadas daquelas obtidas na etapa com predomínio de caldeiras a gás natural. Essa separação foi determinada pela oposição entre Asat, gs e razão raiz/parte aérea de um lado e altura e massa seca da parte aérea do outro. Assim, inicialmente as plantas apresentavam Asat e gs mais altas e menor massa de parte aérea. A oposição entre Asat e crescimento em altura indica que os produtos fotoassimilados possivelmente foram direcionados em grande parte para o sistema de defesa antioxidante (Dizengremel *et al.* 2008). Na etapa seguinte (caldeiras a gás), as plantas apresentaram maior crescimento em altura e menores taxas de Asat. Isso pode ter ocorrido devido a um efeito fertilizante da entrada de óxidos de nitrogênio, principalmente de NO<sub>2</sub> cujas concentrações aumentaram significativamente. O aumento de particulados junto com um possível aumento de compostos orgânicos, que não foram monitorados, também podem ter colaborado com a redução das taxas de Asat nesse período. O posicionamento das unidades amostrais também indica a presença de fatores distintos agindo em cada área de estudo e as diferentes respostas do crescimento. As plantas do CEPEMA apresentaram maior altura, massa seca total e de raízes durante o período de funcionamento da UTE, enquanto as do CM5 foram as que tiveram maiores restrições a seu crescimento, com menor massa seca de raízes, massa seca total e altura. Isso pode ter resultado do aumento da concentração de O<sub>3</sub> no alto da serra, como evidenciado pelo trabalho de Assis (com. pessoal) com *N. tabacum* Bel-W3.

Apesar da exposição das plantas nas proximidades da RPBC ter se estendido por 18 meses (novembro de 2009 a abril de 2011), o atraso das obras de implantação da usina termelétrica (UTE) impediu que fosse realizado o biomonitoramento posterior ao desligamento de todas as caldeiras para que fosse evidenciado se houve ou não ganho ambiental. O que foi possível avaliar foi que as mudanças já processadas resultaram em alterações nas trocas gasosas e no padrão de crescimento de *P. guajava* 'Paluma'.

## **5.2 Experimento em câmaras de topo aberto**

### **5.2.1 Condições climáticas e qualidade do ar**

O período de estudo abrangeu as quatro estações do ano, verão-outono, outono-inverno, inverno-primavera, desse modo, as condições climáticas não foram homogêneas, sendo possível definir dois períodos. Somente a 1ª exposição abrangeu meses de verão, conseqüentemente apresentou temperaturas mais elevadas, assim como alta umidade relativa do ar e maior precipitação. As demais exposições abrangeram meses de outono/inverno (2ª exposição) e inverno/primavera (3ª exposição), desse modo, apresentaram temperaturas mais amenas, com menor umidade relativa do ar e menor precipitação.

Deve-se considerar que as condições climáticas no interior das câmaras diferem um pouco das condições do ambiente externo. Dessa forma, as plantas expostas nas câmaras permaneceram em uma temperatura mais elevada, com menor umidade relativa do ar e menor radiação. Além disso, a proximidade das plantas no interior das câmaras promove o sombreamento das mesmas, entretanto, como as plantas eram periodicamente mudadas de lugar para a realização das medidas, esse efeito de sombreamento ficou diluído por todas elas.

Segundo Nussbaum & Fuhrer (2000), os experimentos realizados em câmaras de topo aberto apresentam algumas limitações que influenciam na resposta das plantas. O aumento da temperatura e a redução da umidade relativa do ar promovem maior déficit de pressão de vapor (DPV), o que pode causar alterações na condutância estomática e conseqüentemente na absorção dos poluentes. Além disso, a ventilação forçada no interior das câmaras também pode ocasionar alterações no controle estomático. Desse modo as respostas obtidas neste experimento em câmaras de topo aberto podem diferir daquelas obtidas em plantas expostas em condições de campo. Mesmo assim, é um método de exposição amplamente utilizado no mundo todo, pois é muito mais barato e fácil de manter do que os sistemas de exposição em ar ambiente tipo "FACE" (Free air carbon exposure) e criam condições mais realísticas do que as câmaras fechadas.

Devido à problemas nas medições das concentrações de poluentes, os dados obtidos não cobriram o número de dias necessário para uma caracterização efetiva. No entanto, é possível afirmar que os níveis de poluentes monitorados não foram elevados, não descartando a possibilidade de picos em alguns momentos. Com os dados disponíveis verifica-se uma redução marcante das concentrações de NO<sub>2</sub>, cujas concentrações na 1ª exposição foram várias vezes superiores às verificadas nas demais. Cabe ressaltar que esta exposição coincidiu

com o verão, período de maior trânsito de veículos na Rodovia Cônego Domênico Rangoni, localizada ao lado do CEPEMA. As emissões provenientes dos veículos que trafegam nessa rodovia também devem ter sido uma fonte de NO<sub>2</sub> para o ambiente em que as câmaras estavam, em conjunto com as emissões da RPBC.

### 5.2.2 Trocas gasosas

As respostas obtidas pelas plantas expostas nas câmaras AF diferiram daquelas obtidas pelas plantas expostas em câmaras AA, assim como a resposta obtida na 1ª exposição diferiu da resposta obtida nas demais exposições.

Na 1ª exposição, as plantas expostas nas câmaras AA apresentaram redução em Asat. De acordo com as concentrações de poluentes no interior das câmaras, as plantas provavelmente estiveram expostas a elevadas concentrações de NO<sub>2</sub>, ao mesmo tempo em que ocorreram as maiores máximas de O<sub>3</sub>.

Embora sejam geralmente necessárias altas concentrações atmosféricas de NO<sub>2</sub> para o surgimento de danos em espécies vegetais (Wellburn 1990), sabe-se atualmente que quando o NO<sub>2</sub> é encontrado na presença de outros poluentes sua ação fitotóxica é aumentada, situação que ocorre com frequência em áreas industriais (Mansfield 2003).

Segundo Fangmeier *et al.* (2003) altas concentrações de O<sub>3</sub> e NO<sub>2</sub> durante um curto período (exposição aguda) podem resultar em sinergismo. Isto parece ter ocorrido com as plantas do AA nesta exposição. As máximas elevadas, tanto de O<sub>3</sub> como de NO<sub>2</sub>, podem ter proporcionado às plantas períodos de exposições agudas, ocasionando o estresse oxidativo e a conseqüente redução da Asat.

As plantas de AA, no entanto, reduziram o ganho de carbono sem diminuir a perda de água, visto que a transpiração foi igual nas plantas dos dois tratamentos. O mesmo ocorreu com a condutância estomática, portanto, essas plantas foram menos eficientes no uso da água do que as do AF. Além disso, pode-se concluir que a redução de Asat nas plantas de AA não foi causada por fechamento estomático, como verificado por diversos autores (Plazek *et al.* 2000, Nali *et al.* 2004, Kitao *et al.* 2009), Pina (2010) em estudo com mudas de 'Paluma' expostas em local contaminado por O<sub>3</sub>, observou redução concomitante de Asat e gs. Segundo Paoletti (2005), o fechamento estomático não é uma resposta direta do efeito do O<sub>3</sub>, mas uma reação a um aumento do carbono interno. Alguns estudos sugerem que a sequência de alterações se inicia com uma perda da atividade e síntese da Rubisco (Farage *et al.* 1991, Farage & Long 1999, Nouchi 2002, Zheng *et al.* 2002). Conseqüentemente, pode ocorrer um declínio da condutância estomática como um efeito secundário ao ozônio (Bortier *et al.*

2000). Segundo Pell *et al.* (1994) de todos os processos da fotossíntese a carboxilação é a mais sensível aos efeitos do O<sub>3</sub>, ou seja, é a mais sensível ao estresse oxidativo.

Alguns trabalhos (Wellburn 1990, Lea 1998, Nussbaum *et al.* 1999) têm relatado os efeitos tóxicos do NO<sub>2</sub> sob concentrações elevadas, supondo que estes efeitos também ativam os mesmos antioxidantes que estão envolvidos na defesa contra O<sub>3</sub> (Sigwolf *et al.* 2001).

Deve-se considerar também que antes de induzir o estresse oxidativo, o NO<sub>2</sub> presente no apoplasto se dissocia em íons promovendo a produção de prótons e conseqüentemente, a acidificação, a qual pode exceder a capacidade de tamponamento das células ocasionando danos. A alteração do pH pode inativar a enzima Rubisco e assim promover uma redução da Asat (Rennenberg e Gessler 1999, Larcher 2000). A redução da Asat neste estudo também pode ter ocorrido como conseqüência da acidificação, considerando que a redução da gs poderia ser o sintoma seguinte.

Nas demais exposições as plantas expostas nas câmaras AA apresentaram um aumento em Asat em relação às plantas expostas nas câmaras AF. No entanto, as concentrações de NO<sub>2</sub> no interior das câmaras diminuíram, assim como as máximas de O<sub>3</sub>. Segundo Wellburn (1990), é evidente que diferentes níveis de NO<sub>2</sub> podem estimular tanto o aumento como a diminuição da fotossíntese líquida dentro de uma mesma espécie, uma vez que, diferentes condições de exposição e diferentes níveis de NO<sub>2</sub> podem produzir efeitos opostos. Sandhu *et al.* (1989), verificaram um aumento da Asat de *Phaseolus vulgaris* L. em tratamento com NO<sub>2</sub>, além de constatar um aumento também no teor de nitrogênio foliar e de clorofila, concluindo que o NO<sub>2</sub> estimulou o crescimento geral da planta e a produtividade das culturas. Segundo Fangmeier *et al.* (2003), em um experimento realizado com concentrações de NO<sub>2</sub> e O<sub>3</sub> mais realísticas houve um estímulo na atividade das enzimas relacionadas com a assimilação do nitrogênio, o que favoreceu o crescimento e a produtividade da planta. Desse modo, em baixas concentrações as respostas das plantas tendem a proporcionar um benefício no crescimento. Provavelmente esse aumento de Asat na plantas do AA nas últimas exposições é uma resposta às baixas concentrações de NO<sub>2</sub>.

Na 2ª exposição as plantas das câmaras AA, assimilaram mais carbono com taxas de transpiração e condutância estomática mais baixas, portanto, o período foi mais favorável e as plantas apresentaram controle estomático e maior eficiência de uso da água. Já na 3ª exposição o balanço de carbono não foi tão favorável às plantas de AA, pois apesar de terem apresentado Asat maior que as plantas de AF, suas taxas de E e gs também foram mais altas. Segundo Sigwolf *et al.* (2001), um melhor suprimento de NO<sub>2</sub> geralmente leva a um aumento

em gs, seus resultados mostraram um aumento da Asat acompanhada de um aumento moderado em gs assim como um aumento na eficiência do uso da água (Sigwolf *et al.* 2001). Neste período (3ª exposição), as plantas de AA também apresentaram maior Amax e RQA do que as de AF.

Cabe lembrar que as plantas de *P. guajava* ‘Paluma’ podem ter sido expostas a outros poluentes não monitorados, como compostos orgânicos voláteis, materiais particulados com composição variada, sendo frequentes em Cubatão a adsorção de sulfatos e de metais pesados, os quais podem ter agido no presente caso.

### 5.2.3 Curso diário do rendimento quântico do fotossistema II (Fv/Fm)

Em todas as três exposições as plantas apresentaram um mesmo padrão de resposta de Fv/Fm. De modo geral nas duas primeiras medidas realizadas (t1 e t2) as plantas não apresentaram declínio na eficiência quântica potencial do PSII durante o curso diurno e os tratamentos quase não se diferenciaram. Entretanto a última medida (t3) de cada exposição apresentou um padrão de resposta diferenciado das demais, pois as plantas apresentaram um declínio na razão Fv/Fm.

Mudas de *Tibouchina pulchra*, *Caesalpineia echinata* e *Psidium guajava* ‘Paluma’ expostas em câmaras de topo aberto e fumigadas com O<sub>3</sub>, apresentaram reduções em Asat e Fv/Fm. No entanto essas reduções foram menos intensas em *Psidium guajava* ‘Paluma’, sendo esta considerada mais resistente do que as demais quanto a este aspecto (Moraes *et al.* 2004).

A diminuição de Fv/Fm indica perda da eficiência fotoquímica potencial do PSII. Vários tipos de estresses ambientais podem limitar a capacidade da planta em utilizar a energia luminosa (Pell *et al.* 1992). O acúmulo de energia de excitação na fase fotoquímica é potencialmente prejudicial, desse modo, a ausência de um mecanismo de dissipação dessa energia promove a redução da atividade dos centros de reação, ou seja, causa a fotoinibição (Castagna *et al.* 2001, Ort 2001).

Mengarda *et al.* 2008, verificou que as folhas de sol da *Psidium guajava* ‘Paluma’ apresentam um declínio na Fv/Fm (0,795) com relação as folhas de sombra (0,859), no entanto ambos os resultados indicam o uso eficiente da energia luminosa pelo PSII, uma vez que, quando a planta está com o aparato fotossintético intacto a razão Fv/Fm deve variar entre 0,75 e 0,85.

Observa-se que no presente estudo, apesar do decréscimo em Fv/Fm, os valores alcançados não foram inferiores à 0,75, indicando que não houve limitações na capacidade da

planta em utilizar a energia luminosa. Mesmo as diferenças comprovadas pela estatística tem pequeno significado biológico, pois, em geral, a Fv/Fm das plantas do tratamento que apresentavam menor valor ainda eram superiores a 0,80.

Wen *et al.* (2004), realizou exposição de *Machilus chinensis* nas áreas com influência da poluição industrial na China, e também obteve um declínio em Fv/Fm mais efetivo ao meio-dia, obtendo sua recuperação ao final do dia. Em estudo realizado por Vieira *et al.* (2010), os maiores valores Fv/Fm foram as 6 e as 18 horas, e a menor foi as 10 horas, sugerindo que essas mudanças devem estar relacionadas com as variações de irradiância e temperatura ao longo do dia.

Marenco *et al.* (2007), em experimento realizado com árvores de dossel isentas de poluição constatou que os parâmetros de fluorescência foram influenciados pelo horário do dia. Fv/Fm atingiu um mínimo ao meio-dia, mas no período da tarde apresentou uma forte tendência de recuperação, conforme a temperatura e a irradiância diminuía. O mesmo foi obtido neste experimento, ao final da tarde os valores de Fv/Fm foram semelhantes aos valores registrados ao alvorecer, sendo que os valores mínimos de Fv/Fm coincidiram com os horários de irradiância e temperatura máximas.

Segundo Ort (2001) o declínio da razão Fv/Fm ao meio-dia pode ser consequência de excesso de energia de excitação no fotossistema II sob condições de alta densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos. Barber & Anderson (1992) completam que o agravante da fotoinibição não está somente determinado pela intensidade luminosa, mas também pela combinação de outros estresses ambientais, tal como a temperatura.

Considerando que essas reduções foram reversíveis, pode-se sugerir que durante o período de exposição aos poluentes as plantas exibiram mecanismos de proteção contra fotoinibição. Desse modo, as plantas apresentaram apenas uma fotoinibição dinâmica, o que significa que ao alvorecer não há na folha nenhum efeito inibitório que tenha permanecido do dia anterior.

Em experimento realizado por Vieira *et al.* (2010) em condições de estresse as plantas não apresentaram reduções significativas na razão Fv/Fm e na F0, mas houve reduções em Fm. O mesmo foi obtido neste estudo. Entretanto, como mostrado por Martínez-Carrasco *et al.* (2002), essa resposta ocorre quando a energia de excitação excede a capacidade de dissipação fotoquímica, no entanto não caracteriza um dano no centro de reação do PSII.

A redução da fluorescência máxima (Fm) em resposta a aumentos na irradiância e na temperatura tem sido relacionado com o ciclo da xantofila, que leva a dissipação não-fotoquímica, ou seja dissipação da energia na forma de calor. Desse modo a restauração de

Fv/Fm ao final da tarde sugere a reconversão da zeaxantina em violaxantina, encerrando o ciclo da xantofila. A taxa de recomposição da integridade estrutural do PSII foi provavelmente favorecida pela diminuição da irradiância e da temperatura no período da tarde (Powles & Björkman 1982, Maxwell & Johnson 2000).

Este resultado sugere que após três meses de exposição as plantas de ambos os tratamentos tornaram-se mais sensíveis às variações climáticas de temperatura e radiação. Entretanto não foi constatado um dano efetivo na fase fotoquímica, uma vez que, os decréscimos em Fv/Fm foram recuperados ao final do dia, indicando apenas a atuação dos mecanismos de fotoproteção.

#### **5.2.4 Acúmulo foliar de elementos**

As concentrações de S foram baixas no período de exposição de plantas nas câmaras de topo aberto, pois em nenhum momento foi verificada diferença significativa na concentração foliar desse elemento em plantas expostas aos dois tratamentos, como verificado anteriormente por Klumpp *et al.* (1997). Perry *et al.* (2010), entretanto, realizou exposições de plantas jovens de *P. guajava* nas proximidades de uma refinaria com duração de três meses, mas também não constatou acúmulo foliar de S.

Quanto ao acúmulo de N, as plantas expostas nas câmaras de AA apresentaram maior teor foliar de N em todas as exposições, porém a comprovação estatística ocorreu apenas na 3ª exposição. Este resultado sugere que este poluente exerceu maior influência nas respostas das plantas, principalmente naquelas expostas nas câmaras AA.

Klumpp *et al.* (1997), em experimento pertencente a um estudo integrado na região de Cubatão, utilizando as espécies *Tibouchina pulchra*, *Psidium guajava* e *Psidium cattleyanum* constatou elevados níveis de acúmulo foliar de S e N nas folhas das plantas expostas no Caminho do Mar, nas proximidades da refinaria. Além disso, verificou que esse acúmulo foi maior em altitudes mais elevadas. Simultaneamente, foram realizados vários outros trabalhos diferindo na utilização das espécies e na duração das exposições, porém obtendo o mesmo resultado. Klumpp *et al.* (2000) expondo plantas jovens de *Tibouchina pulchra*, no Caminho do Mar obtiveram um teor de N foliar maior do que na área referência e o mesmo foi obtido para o S. Moraes *et al.* (2000), expondo a mesma espécie, verificaram que estas apresentaram acúmulo de N e S quando expostas na região do Caminho do Mar. O enriquecimento em N também já tinha sido observado por Domingos *et al.* (1998) e Furlan *et al.* (2004). Moraes *et al.* (2002) avaliaram o acúmulo foliar de S e N em plantas jovens de *Psidium guajava* e *Psidium cattleyanum* também expostas no Caminho do Mar e verificaram acúmulo desses

elementos. Szabo *et al.* (2003), através de exposições de *Tibouchina pulchra* observaram maior concentração foliar de S nas proximidades da refinaria. Todos esses estudo atribuem o elevado acúmulo desses elementos às emissões de NO<sub>x</sub> e SO<sub>2</sub> pela refinaria.

Cabe lembrar que as plantas mantidas no CEPEMA podem ter recebido um aporte adicional do N proveniente das emissões veiculares de NO<sub>2</sub> oriundas da Rodovia Cônego Domênico Rangoni, muito próxima ao CEPEMA, e que pode ter contribuído para esse acúmulo.

O acúmulo foliar de N encontrado nas plantas de *P. guajava* 'Paluma' nas câmaras AA sugere que houve absorção via estômato de compostos gasosos de nitrogênio emitidos durante as atividades da refinaria. Embora o caminho natural para a absorção do nitrogênio pelas plantas seja por meio das raízes, os maiores níveis de N encontrados nas plantas devem ter sido provenientes da atmosfera contaminada, já que todas as plantas utilizadas foram cultivadas em solo com a mesma procedência eliminando-se possíveis variações iniciais na disponibilidade de N no solo que pudessem proporcionar maior ou menor absorção do elemento por via radicial.

### **5.2.5 Injúrias foliares visíveis**

As injúrias foliares observadas em *P. guajava* 'Paluma' foram semelhantes as descritas anteriormente, obedecendo a todos os critérios descritos na literatura de referência e, desse modo, podem ser consideradas como induzidas pelo ozônio (Sanz *et al.* 2002, Novak *et al.* 2003)

A manifestação de injúrias foliares também foi semelhante ao obtido por Furlan *et al.* (2007) em experimento realizado com a mesma cultivar em condições semi-controladas com fumigação de ozônio, estudo que definiu esta espécie como bioindicadora de O<sub>3</sub>. As mesmas características foram encontradas em condições de campo por Pina & Moraes (2007), Dias *et al.* (2007) e Pina (2010).

As injúrias foliares foram verificadas apenas no final da 3<sup>a</sup> exposição nas plantas expostas em câmaras AA, no entanto a porcentagem de incidência e severidade foi baixa. Além disso, as injúrias observadas ocupavam pequena extensão do limbo foliar, o que contribuiu para um IIF muito baixo. A 3<sup>a</sup> exposição abrangeu o início da primavera, desse modo, o aumento da radiação solar associada ao baixo índice pluviométrico desse período pode ter favorecido a formação do poluente O<sub>3</sub>. Deve-se considerar que a primavera é também

um período cujas condições climáticas são favoráveis ao crescimento das plantas, o que promove maior condutância estomática e conseqüentemente maior absorção de poluentes.

Sabendo que as condições climáticas no interior das câmaras de topo aberto diferem das condições normais de campo, deve-se considerar que estas condições podem interferir na absorção do poluente via estômato, e conseqüentemente podem ter influenciado a manifestação de injúrias foliares visíveis.

De modo geral, pode-se concluir que, ao menos na última exposição, o poluente O<sub>3</sub> estava presente na atmosfera em concentrações fitotóxicas, entretanto, assim como o experimento realizado em condições ambientais, incidência, severidade e IIF forma muito baixos se comparados com os verificados em estudos realizados em câmaras de topo aberto por Furlan *et al.* (2007) e em condições ambientais na cidade de São Paulo (Dias *et al.* 2007, Pina & Moraes 2007, Pina & Moraes 2010, Pina 2010).

### **5.2.6 Crescimento**

Tanto as plantas que permaneceram nas câmaras AF quanto aquelas que permaneceram nas câmaras AA apresentaram um mesmo padrão de crescimento, porém alguns deles diferiram entre os tratamentos, indicando uma possível influência de poluentes atmosféricos.

O diâmetro, na 3ª exposição, foi o único parâmetro que diferiu entre os tratamentos, sendo maior nas plantas de AA. Pensa *et al.* (2004) também verificou um aumento no diâmetro basal em *Pinus silvestris* L. expostos nas proximidades de uma indústria de petróleo. Como as concentrações de poluentes obtidas durante o experimento foram inferiores aos níveis críticos estabelecidos pela UNECE e pela WHO os autores relacionaram o aumento no crescimento das plantas a uma combinação de fatores, principalmente a deposição de nitrogênio. Possivelmente, o mesmo pode ter ocorrido neste estudo, uma vez que, as câmaras estão localizadas próximas a duas fontes de emissão de NO<sub>2</sub>, a refinaria e uma rodovia de tráfego intenso (Rodovia Cônego Domênico Rangoni). Da mesma forma, a deposição de nitrogênio também pode ter influenciado no aumento em altura nas plantas expostas nas câmaras AA, como foi constatado na 1ª e 3ª exposições.

Na 2ª exposição ocorreu um aumento no surgimento de ramos novos nas plantas expostas nas câmaras AA. Domingos (1998) e Szabo *et al.* (2003) também verificaram aumento na ramificação em plantas jovens de *Tibouchina pulchra* expostas nas regiões de Cubatão. Pompéia (1997) verificou aumento da ramificação lateral em indivíduos adultos de

diversas espécies arbóreas ocorrentes nas regiões de Cubatão próximas à refinaria, e atribuiu este fato ao estresse provocado pela poluição sobre a gema apical, resultando em redução da dominância apical.

O nitrogênio é um macronutriente e sua deposição atmosférica pode ocasionar um efeito benéfico sobre o crescimento de plantas jovens, como tem sido relatado em outros estudos (Fox & Mickler 1996, Klumpp *et al.* 1997, Legge & Krupa 2003, Mansfield 2003), os quais consideram que as concentrações aéreas de NO<sub>2</sub> podem exercer um efeito fertilizante se elas não ultrapassarem a capacidade da planta em metabolizá-las. Dessa forma, o NO<sub>2</sub> absorvido através das aberturas estomáticas e utilizado como fonte de nitrogênio representa um aporte adicional deste elemento para as plantas podendo reverter em incremento de biomassa (Larcher 2000).

A razão raiz/parte aérea diferenciou os tratamentos na 2ª exposição. As plantas expostas nas câmaras de AA apresentaram menor razão raiz/parte aérea. Segundo Siegwolf *et al.* (2001), este poluente estimula o investimento na assimilação de carbono promovendo maior acúmulo de biomassa, no entanto, este investimento também vem acompanhado de um declínio na biomassa de raiz. Ou seja, as plantas apresentam menor alocação de biomassa para as raízes em relação a que foi alocada para a parte aérea. De fato, essa redução da razão raiz/parte aérea na 2ª exposição está associada com um pequeno aumento na massa seca de caule, um aumento no número de folhas e uma pequena redução na massa seca de raiz.

Estudos realizados com plantas jovens de *Tibouchina pulchra* expostas na região do Caminho do Mar em Cubatão relataram uma evidente redução nesta razão ocasionada por uma diminuição na biomassa de raiz (Klumpp *et al.* 2000, Moraes *et al.* 2000, Szabo *et al.* 2003). Resultado similar foi obtido com plantas jovens de *P. guajava* expostas na mesma região (Klumpp *et al.* 1998, Moraes *et al.* 2002). De acordo com estes estudos, a redução do crescimento em raiz é considerada um indicador sensível de estresse por poluição atmosférica.

Observa-se que o padrão de crescimento diferiu entre as exposições, no entanto essas alterações parecem estar mais relacionadas com a sazonalidade do que com a influência do perfil de contaminação, uma vez que temos um período de verão, o qual parece ter sido favorável ao crescimento das plantas e dois períodos de inverno, o que trouxe limitações ao crescimento. O mesmo foi verificado por Perry *et al.* (2010). Em seu experimento, *P. guajava* também respondeu mais à variação sazonal do que às emissões de uma refinaria próxima, mostrando mudanças evidentes entre as estações do ano, sendo que no verão ocorreu maior crescimento e o menor foi observado nas exposições de outono e inverno.

O número de folhas e o surgimento de ramos foram maiores na 1ª exposição, respondendo a estação de verão e maior pluviosidade, a qual favorece o crescimento. Quanto à massa seca, as restrições ao crescimento foram mais evidentes na 2ª exposição, a qual abrangeu as estações outono-inverno. Apesar da 3ª exposição abranger períodos de inverno, também incluiu o início da primavera, o que pode ter favorecido o acúmulo de biomassa.

Segundo Fangmeier *et al.* (2003) experimentos que avaliaram a interação entre O<sub>3</sub> e NO<sub>2</sub>, apresentaram alta variabilidade nas respostas, alterando com relação ao período em que o experimento foi realizado e também com relação ao estágio de desenvolvimento da planta.

## 6. Discussão integrada

---

Observando a figura 42 (Anexo), nota-se que a ativação da UTE alterou o perfil de contaminação atmosférica do entorno da Refinaria. O aumento da concentração do NO<sub>2</sub> foi imediato, logo após o período de ativação da UTE e assim se manteve até dezembro de 2011. Em contrapartida houve reduções das emissões de SO<sub>2</sub>. Já a concentração de O<sub>3</sub> inicialmente também apresentou um aumento, mas no final do experimento em condições ambientais, apresentou uma nítida redução, a qual foi mantida até o final de 2011.

O experimento em condições ambientais abrangeu períodos antes e depois da ativação UTE, e mostrou uma nítida mudança nas respostas das plantas quanto à alteração do combustível. *P. guajava* ‘Paluma’ apresentou reduções da Asat e gs, alterações no crescimento e manifestação de injúrias foliares visíveis induzidas por O<sub>3</sub>, indicando a presença deste poluente em concentrações fitotóxicas. As plantas de todos os pontos de exposição apresentaram um mesmo padrão de resposta, porém a resposta das plantas expostas nos locais mais próximos da refinaria diferiu das plantas expostas nos locais mais distantes, indicando maior influência dos poluentes nas áreas mais próximas da refinaria e em locais de maior altitude.

A redução da Asat mesmo em baixas concentrações de O<sub>3</sub> indica que este poluente estava misturado a outros. Possivelmente a troca de combustível promoveu aumento de outros poluentes não monitorados, como metais pesados e compostos orgânicos voláteis, os quais podem estar também desencadeando estresse oxidativo nas plantas e contribuindo para as reduções em Asat.

As plantas expostas nas câmaras não apresentaram um padrão diferenciado quanto as etapas do cronograma da refinaria, uma vez que o perfil de contaminação na fase deste experimento já estava mais estável, desse modo mudanças nas respostas da plantas foram menos evidentes. De modo geral, este experimento caracterizou o período após a ativação da UTE.

A diferença nas respostas das plantas ocorreu entre a 1ª exposição e as demais. O experimento em câmaras inicialmente compreendeu um período com altas concentrações de O<sub>3</sub>, e a resposta das plantas foi uma redução em Asat na 1ª exposição. As demais exposições abrangeram um período mais estável, caracterizado por baixas concentrações de O<sub>3</sub> e elevadas concentrações de NO<sub>2</sub>. O efeito fertilizante do NO<sub>2</sub> resultou em maior acúmulo de biomassa. Estes resultados coincidiram com as respostas das plantas expostas no CEPEMA no experimento em condições ambientais, as quais apresentaram maior acúmulo de biomassa,

mostrando maior influencia do NO<sub>2</sub> nesta área. Pode-se dizer que em curto prazo, o NO<sub>2</sub> possa estar proporcionando um efeito benéfico para as espécies vegetais, no entanto, a médio e longo prazo a contínua deposição de nitrogênio pode se tornar deletéria.

## 7. Conclusão

---

As respostas de *Psidium guajava* 'Paluma' às condições ambientais do entorno da Refinaria Presidente Bernardes, em Cubatão (SP), foram alteradas devido à troca do combustível utilizado pela refinaria, de óleo a gás natural.

Foram constatadas alterações tanto na fotossíntese como no crescimento em resposta ao novo combustível, assim como houve acúmulo foliar de nitrogênio em *P. guajava* 'Paluma'.

Esta espécie é uma bioindicadora de O<sub>3</sub> eficiente, apresentando respostas com significado biológico para vegetação nativa. No entanto, por não apresentar resposta imediata, o ideal é utilizá-la em exposições de longo prazo e de preferência em locais com concentrações de ozônio mais elevadas.

Apesar das tendências de redução das concentrações de O<sub>3</sub>, o experimento em condições ambientais evidenciou que além do O<sub>3</sub> outros poluentes oxidantes devem estar agindo e promovendo estresse, ao menos em locais de maior altitude. Além disso, o efeito benéfico do NO<sub>2</sub> nas plantas expostas no CEPEMA não pode ser garantido em longo prazo.

Desse modo, não é possível garantir que a troca de combustível tenha resultado em ganho ambiental, ao menos até o momento.

## 8. Referências bibliográficas

---

- Alonso, C.D. & Godinho, R.** 1992. A evolução da qualidade do ar em Cubatão. *Química Nova* 15: 126-136.
- Amthor, J.S. & McCree, K.** 1990. Carbon balance of stressed plants: a conceptual model for integrating research results. *In: R.G. Alscher & J.R. Cumming. (eds.). Stress responses in plants: adaptation and acclimation mechanisms.* Wiley-Liss, New York, pp. 1-15.
- Arndt, U. & Schweizer, B.** 1991. The use of bioindicators for environmental monitoring in tropical and subtropical countries. *In: H. ElleMBERG, U. Arndt, B. Brettheuer, B. Ruthsatz, L. Steubing (eds.). Biological monitoring: Signals from the environment.* Vieweg & Sons, Eschborn, p. 199-298.
- Ashmore, M.R.** 2003. Effects of oxidants at the whole plant and community level. *In: J.N.B. Bell & M. Treshow (eds.). Air pollution and plant life.* John Wiley & Sons Ltd, West Sussex, pp. 89-113.
- Barber, J. & Andersson, B.** 1992. Too much of a good thing: light can be bad for photosynthesis. *Trends in Biochemical Sciences* 17: 61-66.
- Bataglia, O.C., Furlani, A.M.C., Teixeira, J.P.F., Furlani, P.R. & Gallo, J.R.** 1983. Métodos de análise química de plantas. Instituto Agrônômico, Campinas, 48p. (Boletim Técnico, 78).
- Benincasa, M.M.P.** 2003. Análise de crescimento de plantas (noções básicas). Jaboticabal: FUNEP, 41p.
- Bermejo, V., Alonso, R., Elvira, S., Rábago, I. & García, M.** 2010. El ozono troposférico y sus efectos em la vegetación. Ministerio de Medio Ambiente Y Medio Rural Y Marino. Madrid, 74p.
- Blokhina, O., Virolainen, E. & Fagerstedt.** 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of Botany* 91: 179-194.
- Blum, O., Bytnerowicz, A., Manning, W. & Popovicheva, L.** 1997. Ambient tropospheric ozone in the Ukrainian Carpathian mountains and Kiev region: detection with passive samplers and bioindicator plants. *Environmental Pollution* 98: 299-304.
- Bortier, K., Ceulemans, R. & De Temmerman, L.** 2000. Effects of ozone exposure on growth and photosynthesis of beech seedlings (*Fagus sylvatica*). *New Phytologist* 146: 271-280.

- Bragança, C.F., Kono, E.C., Aguiar, L.S.J. & Santos, R.P. dos.** 1987. Avaliação da degradação da Serra do Mar. *Ambienteb* 2: 77-85.
- Calatayud, A. & Barreno, E.** 2001. Chlorophyll *a* fluorescence, antioxidant enzymes and lipid peroxidation in tomato in response to ozone and benomyl. – *Environmental Pollution* 115: 283-289.
- Castagna, A., Nali, C., Ciompi, S., Lorenzini, G., Soldatini, G.F. & Ranieri, A.** 2001. Ozone exposure affects photosynthesis of pumpkin (*Cucurbita pepo*) plants. *New Phytologist* 152: 223-229.
- CETESB – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo.** 2011. Relatório de Qualidade do Ar no Estado de São Paulo 2010. Governo de Estado de São Paulo, SP. Disponível em <http://www.cetesb.sp.gov.br/Ar/publicacoes.asp>.
- Chappelka, A., Renfro, J., Somers, G. & Nash, B.** 1997. Evaluation of ozone injury on foliage of blackcherry (*Prunus serotina*) and tall milkweed (*Asclepias exalata*) in Great Smoky Mountains National Park. *Environmental Pollution* 95: 3-18.
- Cho, K., Tiwari, S., Agrawal, S.B., Torres, N.L., Agrawal, M., Sarkar, A. Shibato, J., Agrawal, G., Kubo, A. & Rakwal, R.** 2011. Tropospheric ozone and plants: absorption, responses, and consequences. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 212: 61-111.
- Cunha, A.L.** 2006. Avaliação do crescimento de plantas jovens de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil) expostas à poluição aérea em diferentes regiões da cidade de São Paulo, SP. Dissertação de Mestrado, Instituto de Botânica, São Paulo.
- Darral, N.M.** 1989. The effect of air pollutants on physiological processes in plants. *Plant, Cell and Environment* 12: 1-30.
- Dias, A.P.S., Rinaldi, M.C.S. & Moraes, R.M.** 2007. Alterações bioquímicas associadas a injúrias foliares visíveis em plantas jovens de *Psidium guajava* 'Paluma' mantidas em ambiente contaminado por ozônio. *Hoehnea* 34: 231-238.
- Dizengremel, P., Le Thies, D., Bagard, M. & Jolivet, Y.** 2008. Ozone risk assessment for plants: central role of metabolism-dependent changes in reducing power. *Environmental Pollution* 156: 11-15.
- Domingos, M., Klumpp, A. & Klumpp, G.** 1998. Air pollution impact on the Atlantic Forest at the Cubatão region, SP, Brazil. *Ciência & Cultura* 50: 230-236.
- Donagi, A. E. & Goren, A.** 1979. Use of indicator plants to evaluate atmospheric levels of nitrogen dioxide in the vicinity of a chemical plant. *Environmental Science & Technology* 13: 986-989.

- De Temmerman, L., Bell, J.N., Garrec, J.P., Klumpp, A., Krause, G.H.M. & Tonneijck, A.E.G.** 2004. Biomonitoring of air pollutants with plants – considerations for the future. *In*: A. Klumpp, W. Ansel, G. Klumpp, G. (eds.). Urban air pollution, bioindication and environmental awareness. Curvillier Verlag, Göttingen, pp. 337-373.
- EPA – Environmental Protection Agency.** 2006. Air Quality Criteria for Ozone and Related Photochemical Oxidants (2006 Final). U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, EPA/600/R-05/004aF-cF.
- Erisman, J.W., Draaijers, G.P.J., Steingröver, E., Van Dijk, H., Boxman, A. & De Vries, W.** 1998. Assessment of the exposure and loads of acidifying and eutrophying pollutants and ozone, as well as their harmful influence on the vitality of the trees and the speulder forest ecosystem as a whole. *Water, Air and Soil Pollution* 105: 539-571.
- El-Khatib, A.A.** 2003. The response of some common Egyptian plants to ozone and their use as biomonitors. *Environmental Pollution* 124: 419-428.
- Fangmeier, A. Bender, J. Weigel, H. J. & Jäger H. J.** 2003 Effects of pollutant mixtures. *In*: J.N.B. Bell & M. Treshow (eds.). Air pollution and plant life. John Wiley & Sons Ltd, West Sussex, pp. 251-272.
- Farage, P.K., Long, S.P., Lechner, E.G. & Baker, N.R.** 1991. The sequence of change within the photosynthetic apparatus of wheat following short-term exposure to ozone. *Plant Physiology* 95: 529-535.
- Farage, P.K. & Long, S.P.** 1999. The effects of O<sub>3</sub> fumigation during leaf development on photosynthesis of wheat and pea: an *in vivo* analysis. *Photosynthesis Research* 59: 1-7.
- Fernández, I. G.** 2009. Flujos estomáticos de ozono y sus efectos sobre la vegetación. Relaciones dosis-respuesta. Tese de Doutorado. Universitat Autònoma de Madrid, Madrid.
- Fox, S. & Mickler, R.A.** 1996. Impact of air pollutants on southern pine forests. *Ecological Studies*. Vol. 118. Springer, New York.
- Freedman, B.** 1995. Environmental ecology. The ecological effects of pollution, disturbance and other stresses. 2 ed. Academic Press Inc., San Diego.
- Furlan, C.M., Salatino, A. & Domingos, M.** 2004. Influence of air pollution on leaf chemistry, herbivore feeding and gall frequency on *Tibouchina pulchra* leaves in Cubatão (Brazil). *Biochemical Systematics And Ecology* 32: 253-263.
- Furlan, C.M., Moraes, R.M., Bulbovas, P., Domingos, M., Salatino, A. & Sanz, M.J.** 2007. *Psidium guajava* 'Paluma' (the guava plant) as a new bioindicator of ozone in the tropics. *Environmental Pollution* 147: 691-695.

- Gould, K.S.** 2004. Nature's Swiss army knife: the diverse protective roles of anthocyanins in leaves. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 5: 314-320.
- Grulke, N.E., Neufeld, H.S., Davison, A.W., Roberts, M. & Chapelka, A.H.** 2007. Stomatal behavior of ozone-sensitive and – insensitive coneflowers (*Rudbeckia laciniata* var. *digitata*) in Great Smoky Mountains Park. *New Phytologist* 173: 100-109.
- Guidi, L., Cagno, R. & Soldatini, G.F.** 2000. Screening of bean cultivars for their response to ozone as evaluated by visible injury and leaf chlorophylls fluorescence. *Environmental Pollution* 107: 349-355.
- Guidi, L., Nali, C., Lorenzini, G., Filippi, F. & Soldatini, G.F.** 2001. Effect of chronic ozone fumigation on the photosynthetic process of poplar clones showing different sensitivity. *Environmental Pollution* 113: 245-254.
- Guidi, L., Degle'Innocenti, E. & Soldatini, G.F.** 2002. Assimilation of CO<sub>2</sub>, enzyme activation and photosynthetic electron transport in beans leaves, as affected by high light and ozone. *New Phytologist* 156: 377-388.
- Gutberlet, J.** 1996. Cubatão: desenvolvimento, exclusão social e degradação ambiental. Edusp, São Paulo.
- Halliwell, B.** 2006. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiology* 141: 312-322.
- Halliwell, B. & Gutteridge, J.M.C.** 2007. Free radicals in biology and medicine. 4ed. Clarendon Press, Oxford.
- Heath, R.L.** 1994. Possible mechanisms for the inhibition of photosynthesis by ozone. *Photosynthesis Research* 39: 439-451.
- Heath, R. L.** 2008. Modification of the biochemical pathways of plants induced by ozone: What are the varied routes to change? *Environmental Pollution* 155: 453-463.
- Heath, R.L., Lefohn, A.S. & Musselman, R.C.** 2009. Temporal processes that contribute to nonlinearity in vegetation responses to ozone exposure and dose. *Atmospheric Environment* 43: 2919-2928.
- Heggestadt, H.E.** 1991. Origin of Bel-W3, Bel-C and Bel-B tobacco varieties and their use as indicators of ozone. *Environmental Pollution* 74: 264-291.
- Iqbal, M., Abdin, M.Z., Mahmooduzzafar, M., Yunus, M. & Agrawal, M.** 1996. Resistance mechanisms in plants against air pollution. *In: M. Yunus & M. Iqbal (eds.). Plant response to air pollution.* John Wiley & Sons, Chichester, p. 195-240.

- ITAL – Instituto de Tecnologia de Alimentos.** 1988. Goiaba, cultura, matéria-prima, processamento e aspectos econômicos. 2 ed. Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas.
- Jacob, D.J.** 1999. Introduction to atmospheric chemistry. 1ªed. Princeton University Press, New Jersey.
- Jaeschke, W.** 1997. Chemistry module. *In*. D. Klockow, H.T. Targa & W. Vautz (eds.). Air Pollution and Vegetation Damage in the Tropics – the Serra do Mar as an Example- Final Report 1990-1996 GKSS GmbH, Geesthacht.
- Kitao, M., Löw, M., Heerdt, C., Grams, T.E.E., Häberle, K-H. & Matyssek, R.** 2009. Effects of chronic elevated ozone exposure on gas exchange responses of adult beech trees (*Fagus sylvatica*) as related to the within-canopy light gradient. *Environmental Pollution* 157: 537-544.
- Klumpp, A.** 2001. Utilização de bioindicadores de poluição em condições temperadas e tropicais. *In*: N.B. Maia, H.L. Martos, W. Barreira (eds). Indicadores ambientais: conceitos e aplicações. EDUC-SP, São Paulo, pp. 77- 94.
- Klumpp, A., Klumpp, G. & Domingos, M.** 1994. Active biomonitoring at Serra do Mar near the industrial complex of Cubatão, Brazil. *Environmental Pollution* 85: 109-116.
- Klumpp, A., Domingos, M. & Klumpp, G.** 1997. Vegetation module. *In*: D. Klockow, H. T. Targa, & W. Vautz (eds.). Air pollution and vegetation damage in the tropics – the Serra do Mar as an Example- Final Report 1990 1996 GKSS GmbH Geesthacht. pp. 1-77.
- Klumpp, A., Domingos, M. & Klumpp, G.** 1998. Effects of complex air pollution on tree species of the Atlantic rain forest near Cubatão, Brazil. *Chemosphere* 36: 989-994.
- Klumpp, G., Furlan, C.M.; Domingos, M. & Klumpp, A.** 2000. Responses of stress indicators and growth parameters of *Tibouchina pulchra* Cogn. exposed to air and soil pollution near Cubatão, Brazil. *Science of the Total Environment* 246: 79-91.
- Klumpp, A., Ansel, W., Klumpp, G., Vergne, P., Sifakis, N., Sanz, M.J., Rasmussen, S., Ro-Poulsen, H., Ribas, A., Peñuelas, J., Kambezidis, H., He, S., Garrec, J.P., & Calatayud, V.** 2006. Ozone pollution and ozone biomonitoring in European cities Part II. Ozone induced plant injury and its relationship with descriptor of ozone pollution. *Atmospheric Environment* 40: 7437-7448.

- Kolb, T.E. & Matyssek, R.** 2003. Limitations and perspectives about scaling ozone impacts in trees. *In*: D.F. Karnosky, K.E. Pery, A.H. Chappelka, C. Simpson & J.Pikkarainen (eds.). Air pollution, global change and forests in the new millennium. Elsevier, New York, pp. 141-173.
- Krupa, S.V. & Manning, W.J.** 1988. Atmospheric ozone: formation and effects on vegetation. *Environmental Pollution* 50: 101-137.
- Krupa, S. V.** 1997. Air pollution, people and plants: an introduction. APS Press, Minnesota.
- Krupa, S., McGrath, M.T., Andersen, C.P., Booker, F.L., Burkey, K.O., Chappelka, A.H., Chevone, B.I. Pell, E. J. & Zilinskas, B.A.** 2001. Ambient ozone and plant health. *Plant Diseases* 85: 4-12.
- Larcher, W.** 2000. O balanço de carbono das plantas. *In*: W. Larcher (ed). *Ecofisiologia Vegetal*. Rima Artes e Textos, São Carlos, pp. 69-226.
- Lea P.J.** 1998. Oxide of nitrogen and ozone: can our plants survive? *New Phytologist* 139: 25-26.
- Legge, A. H. & Krupa, S. V.** 2003. Effects of sulphur dioxide. *In*: J.N.B. Bell & M. Treshow (eds.). Air pollution and plant life. John Wiley & Sons Ltd, West Sussex, pp.135-162.
- Leitão Filho, H.F., Pagano, S.N., Cesar, O., Timoni, J.L. & Rueda, J.J.** 1993. Ecologia da Mata Atlântica em Cubatão. EDUNESP, Rio Claro.
- Long, S.P. & Naidu, S.L.** 2002. Effects of oxidants at the biochemical, cell and physiological levels, with particular reference to ozone. *In*: J.N.B. Bell & M. Treshow (eds.). Air Pollution and Plant Life. John Wiley & Sons Ltd., West Sussex, pp. 69-118.
- Malavolta, E., Vitti, G.C. & Oliveira, S.A.** 1997. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. POTAFOS, Piracicaba.
- Manning, W.J.** 2003. Detecting plant effects is necessary to give biological significance to ambient ozone monitoring data. *Environmental Pollution* 126: 375-379.
- Mansfield T.A.** 1998. Stomata and plant water relations: does air pollution create problems? *Environmental Pollution* 101: 1-11.
- Mansfield, T.A.** 2003. Nitrogen oxides: old problems and new challenges. *In*: J.N.B. Bell & M. Treshow (eds.). Air Pollution and Plant Life. John Wiley & Sons Ltd, West Sussex, pp.119-134.
- Marengo, R.A., Neves, T.S., Camargo, M.A.B., Dias, D.P., Costa, G.F. & Rodrigues, J.C.** 2007. Fotoinibição dinâmica da fotossíntese em árvores de dossel da Amazônia Central. *Revista Brasileira de Biociências* 5: 150 – 152.

- Martínez-Carrasco, R., Sánchez-Rodríguez, J. & Pérez, P.** 2002. Changes in chlorophyll fluorescence during the course of photoperiod and in response to drought in *Casuarina equisetifolia* Forst and Forst. *Photosynthetica*, 40: 363-368.
- Maxwell, K. & Johnson, G.N.** 2000. Chlorophyll fluorescence: a practical guide. *Journal of Experimental Botany* 51: 659-668.
- McAinsh, M.R., Evans, N.H., Montgomery, L.T. & North, K.A.** 2002. Calcium signalling in stomatal responses to pollutants. *New Phytologist* 153 : 441–447.
- Mengarda, L.H.G., Gomes, T.D.H.U., Costalonga, S.A., Costa, A.F.S., Costa, A.N., Caetano, L.C.S. & Silva, D.M.** 2008. Estudo da fluorescência da clorofila *a* em folhas de sol e folhas de sombra de goiabeira (*Psidium guajava*), cultivar Paluma. *In: XX Congresso Brasileiro de Fruticultura 54<sup>th</sup>. Annual Meeting of the Interamerican Society for Tropical Horticulture.*
- Mooney, H. & Winner, W.E.** 1988. Carbon gain, allocation, and growth as affected by atmospheric pollutants. *In: S. Schulte-Hostede, N.M. Darral, L.W. Blank; A.R. Welburn (eds.). Air pollution and plant metabolism. Elsevier, London, pp. 272-287.*
- Moraes, R.M.** 1999. Fotossíntese líquida e respostas bioindicadoras da poluição aérea em indivíduos jovens de *Tibouchina pulchra* Cogn. (Melastomataceae), em Cubatão, SP. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Moraes, R.M., Delitti, W.B.C. & Moraes, J.A.P.V.** 2000. Fotossíntese líquida e crescimento de *Tibouchina pulchra* Cogn. em Cubatão, SP. *Hoehnea* 27: 77-85.
- Moraes, R.M., Klumpp, A., Furlan, C.M., Klumpp, G., Domingos, M., Rinaldi, M.C.S. & Modesto, I.F.** 2002. Tropical fruit trees as bioindicators of industrial air pollution in southeast Brazil. *Environment International* 28: 367-374.
- Moraes, R.M., Delitti, W.B.C. & Moraes, J.A.P.V.** 2003. Gas exchange, growth, and chemical parameters in a native Atlantic forest tree species in polluted areas of Cubatão, Brazil. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 54: 339-345.
- Moraes, R.M., Furlan, C.M., Bulbovas, P., Domingos, M., Meirelles, S.T., Salatino, A., Delitti, W.B.C. & Sanz, M.J.** 2004. Photosynthetic responses of tropical trees two short-term exposure to ozone. *Photosynthetica* 42: 291-293.
- Moraes, R.M., Bulbovas, P., Furlan, C.M., Domingos, M., Meirelles, S.T., Delliti, W.B. & Sanz, M.J.** 2006. Physiological responses of sapling of *Caesalpinia echinata* Lam., a Brazilian tree species, under ozone fumigation. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 63: 306-312.

- Morgan, P.B., Ainsworth, E.A. & Long, S.P.** 2003. How does elevated ozone impact soybean? A meta-analysis of photosynthesis, growth and yield. *Plant, Cell and Environment* 26: 1317-1328.
- Nali, C., Paoletti, E., Marabottini, R., Della Rocca, G., Lorenzini, G., Paolacci, A.R., Ciaffi, M. & Badiani, M.** 2004. Ecophysiological and biochemical strategies of response to ozone in Mediterranean evergreen broadleaf species. *Atmospheric Environment* 38: 2247-2257.
- Nouchi, I.** 2002. Responses of whole plant to air pollutants. *In: K. Omasa, H. Saji, S. Youssefian, N. Kondo (eds.). Air pollution and plant biotechnology.* Springer, Tokyo, pp. 3-39.
- Novak, K., Skelly, J.M., Schaub, M., Kräuchi, N., Hug, C., Landolt & W. & Bleuler, P.** 2003. Ozone air pollution and foliar injury development on native plants of Switzerland. *Environmental Pollution* 125: 41-52.
- Novak, K., Schaub, M., Fuhrer, J., Skelly, J.M., Hug, C., Landolt, W. & Bleuler, P., Kräuchi, N.** 2005. Seasonal trends in reduced leaf gas exchange and ozone-induced foliar injury in three ozone sensitive woody plant species. *Environmental Pollution* 136: 33-45.
- Nussbaum S., Amman M. & Fuhrer J.** 1999. Foliar absorption and use of airborne oxidized nitrogen by terrestrial plants. *In: H.S. Srivastava, R.P. Singh (eds.). Nitrogen nutrition.* New Delhi, IBH Publishing Co Pvt Ltd, 103-172.
- Nussbaum S. & Fuhrer J.** 2000. Difference in ozone uptake in grassland species between open-top chambers and ambient air. *Environmental Pollution* 109: 463-471.
- Oksanen, E.J.** 2001. Increasing tropospheric ozone level reduced birch (*Betula pendula*) dry mass within a five years period. *Water, Air and Soil Pollution* 130: 947-952.
- Ort D.R.** 2001. When there is too much light. *Plant Physiology* 125: 29-32.
- Pandey, J. & Agrawal, M.** 1994. Evaluation of air pollution phytotoxicity in a seasonally dry tropical urban environment using three woody perennials. *New Phytologist* 126: 53-61.
- Paoletti, E. & Grulke, N.E.** 2005. Does living in elevated CO<sub>2</sub> ameliorate tree response to ozone? A review on stomatal responses. *Environmental Pollution* 137: 483-493.
- Pell E.J., Eckardt N. & Enyedi A. J.** 1992. Timing of ozone stress and resulting status of ribulose biphosphatase carboxylase/oxygenase and associated net photosynthesis. *New Phytologist* 120: 397-405.

- Pell, E.J., Eckardt, N.A. & Glick, R.E.** 1994. Biochemical and molecular basis for impairment of photosynthetic potencial. *Photosynthetic Research* 39: 453-462.
- Pell, E.J., Schlaghauser, D. & Arteca, R.** 1997. Ozone-induced oxidative stress: mechanisms of action and reaction. *Physiologia Plantarum* 100: 264-273.
- Pensa, M., Liblik, V. & Jalkanen, R.** 2004. Temporal changes in the state of a pine stand in a bog affected by air pollution in Northeast Estonia. *Water, Air and Soil Pollution* 159: 87-99.
- Peñuelas, J., Ribas, A., Gimeno, B.S. & Filella, I.** 1999. Dependence of ozone biomonitoring on meteorological conditions of diferent sites in Catalonia (N.E. Spain). *Environmental Monitoring and Assessment* 56: 221-224.
- Perry, C.T., Divan, A.M. Jr., Rodriguez, M.T.R. & Atz, V.L.** 2010. *Psidium guajava* as a bioaccumulator of nickel around an oil refinery, southern Brazil *Ecotoxicology and Environmental Safety* 73: 647-654.
- Petrobrás - PETRÓLEO BRASILEIRO S.A..** 2009. Plano de Monitoramento das Emissões Atmosféricas. Cubatão, 34p.
- Pina, J.M. & Moraes, R.M.** 2007. Ozone-induced foliar injury in saplings of *Psidium guajava* 'Paluma' in São Paulo, Brazil. *Chemosphere* 66: 1310-1314.
- Pina, J.M.** 2010. Trocas gasosas, sintomas foliares visíveis e atividade enzimática antioxidativa em plantas jovens de *Psidium guajava* 'Paluma' expostas ao ozônio no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga. Tese de Doutorado. Instituto de Botânica, São Paulo.
- Pina, J.M. & Moraes, R.M.** 2010. Gas exchange, antioxidants and foliar injuries in saplings of a tropical woody species exposed to ozone. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 73: 685-691.
- Pinzón-Torres, J.A.** 2008. Mecanismo de defesa e recuperação da fotossíntese em *Centrolobium tomentosum* sob condições de estresse induzido por SO<sub>2</sub>. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- Pompéia, S.L.** 1997. Sucessão secundária da Mata Atlântica em áreas afetadas pela poluição atmosférica de Cubatão, SP. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Powles, S.B. & Björkman, O.** 1982. Photoinhibition of photosynthesis effect on chlorophyll fluorescence at 77K in intact leaves and in chloroplast membranes of *Nerium oleander*. *Planta* 156: 97-107.

- Pudasainee, D., Sapkota, B., Shrestha, M.L.; Kaga, A., Kondo, A. & Inoue, Y.** 2006. Ground level ozone concentrations and its association with NO<sub>x</sub> and meteorological parameters in Kathmandu valley, Nepal. *Atmospheric Environment* 40: 8081-8087.
- Rennenberg H. & Gessler A.** 1999. Consequences of N-deposition to forest ecosystems – recent results and future research needs. *Water, Air and Soil Pollution* 116: 47–64.
- Resolução CONAMA 03/1990, de 28/06/1990**, dispõe sobre os padrões de qualidade do ar previstos no PRONAR. Publicação DOU: 22/08/1990, pp. 15937-15939.
- Rezende, F.M. & Furlan, C.M.** 2009. Anthocyanins and tannins in ozone-fumigated guava trees. *Chemosphere* 76: 1445-1450.
- Robinson, M.F., Heath, J. & Mansfield, T.A.** 1998. Disturbances in stomatal behaviour caused by air pollutants. *Journal of Experimental Botany* 49: 461-469.
- Saitanis C.J. & Karandinos, M.G.** 2002 . Effects os ozone on tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) varieties. *Journal of Agronomy and Crop Science* 188: 51-58.
- Saleem, A., Loponen, J., Pihlaja, K. & Oksanen, E.** 2001. Effects of long term open-field ozone exposure on leaf phenolics of European silver birch (*Betula pendula* Roth.). *Journal of Chemical Ecology* 27: 1049-1062.
- Sandhu, R. & Gupta, G.** 1989. Effects of nitrogen dioxide on growth and yield of black turtle bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. Domino. *Environmental Pollution* 59: 337-344.
- Sanz, M.J., Sanchez, G., Calatayud, V., Gallego, M.T. & Cervero, J.** 2002. La contaminación atmosférica de los bosques: Guia para la identificación de los daños visibles causados por ozono. Ministerio del Medio Ambiente, Madrid.
- Siegwolf, R.T.W., Matyssek, R., Saurer, M., Mauer, S., Gunthardt-Goerg, M.S, Schumutz, P. & Bucher, J.B.** 2001. Stable isotope analysis reveals differential effects of soil nitrogen and nitrogen dioxide on the water use efficiency of hybrid poplar leaves. *New Phytologist* 149: 233-246.
- Saxe H.** 1990. Photosynthesis and stomatal responses to polluted air, and the use of physiological and biochemical responses for early detection and diagnostic tools. *Advances in Botanical Research* 18: 2–129.
- Schaub, M., Skelly, J.M., Steiner, K.C., Davis, D.D., Pennypacker, S.P., Zhang, J., Ferdinand, J.A., Savage, J.E. & Stevenson, R.E.** 2003. Physiological and foliar injury responses of *Prunus serotina*, *Fraxinus americana*, and *Acer rubrum* seedlings to varying soil moisture and ozone. *Environmental Pollution* 124: 307-320.

- Smith, G., Coulston, J., Jepsen, E. & Prichard, T.** 2003. A national ozone biomonitoring program – results from field surveys of ozone sensitive plants in northeastern forests (1994-2000). *Environmental Monitoring and Assessment* 87: 271-291.
- Szabo, A., Domingos, M., Rinaldi, M.C.S. & Delitti, W.B.C.** 2003. Acúmulo foliar de enxofre e suas relações com alterações no crescimento de plantas jovens de *Tibouchina pulchra* Cogn. (Melastomataceae) expostas nas proximidades do pólo industrial Cubatão, SP. *Revista Brasileira de Botânica* 26: 379-390.
- Taiz, L. & Zeiger, E.** 2009. *Fisiologia Vegetal*. 4 ed. Artmed Editora S.A, São Paulo.
- Takagi, M. & Gyokusen, K.** 2004. Light and atmospheric pollution affect photosynthesis of street trees in urban environments *Urban Forestry. Urban Greening*. 2: 167–171.
- Tresmondi, F. & Alves, E.S.** 2011. Structural changes in *Psidium guajava* ‘Paluma’ leaves exposed to tropospheric ozone. *Acta Botanica Brasilica* 25: 542-548.
- UN/ECE - United Nations Economic Commission for Europe Convention on Long-range Transboundary Air Pollution.** 2004. Mapping manual 2004 - Manual on methodologies and criteria for modeling and mapping critical loads e levels and air pollution effects, risks and trends. Disponível em: <http://icpmapping.org>.
- VDI - Verein Deutscher Ingenieure.** 2003. Biological measuring techniques for the determination and evaluation of effects of air pollutants on plants. Determination and evaluation of the phytotoxic effects of photooxidants. Standardized tobacco exposure. VDI 3957/6. VDI/DIN Handbuch Reinhaltung der Luft, Vol. 1, Beuth, Berlin.
- Vieira, D.A.P., Portes, T.A., Stacciarini-Seraphin, E. & Teixeira, J.B.** 2010. Fluorescência e teores de clorofilas em abacaxizeiro cv. pérola submetido a diferentes concentrações de sulfato de amônio. *Revista Brasileira de Fruticultura* 32: 360-368.
- Vingarzan, R.** 2004. A review of surface ozone background levels and trends. *Atmospheric Environment* 38: 3431-3442.
- Wellburn, A.R.** 1990. Why are atmospheric oxides of nitrogen usually phototoxic and not alternative fertilizers? *New Phytologist* 115: 395-429.
- Wen, D., Kuang, Y. & Zhou, G.** 2004. Sensitivity analysis of woody species exposed to air pollution based on ecophysiological measurements. *Environmental Science & Pollution Research* 11: 165-170.
- WHO – World Health Organization.** 2000. Air Quality Guidelines for Europe. 2.ed. WHO Regional Publications European Series. Disponível em: <http://www.euro.who.int/document/e71922.pdf>

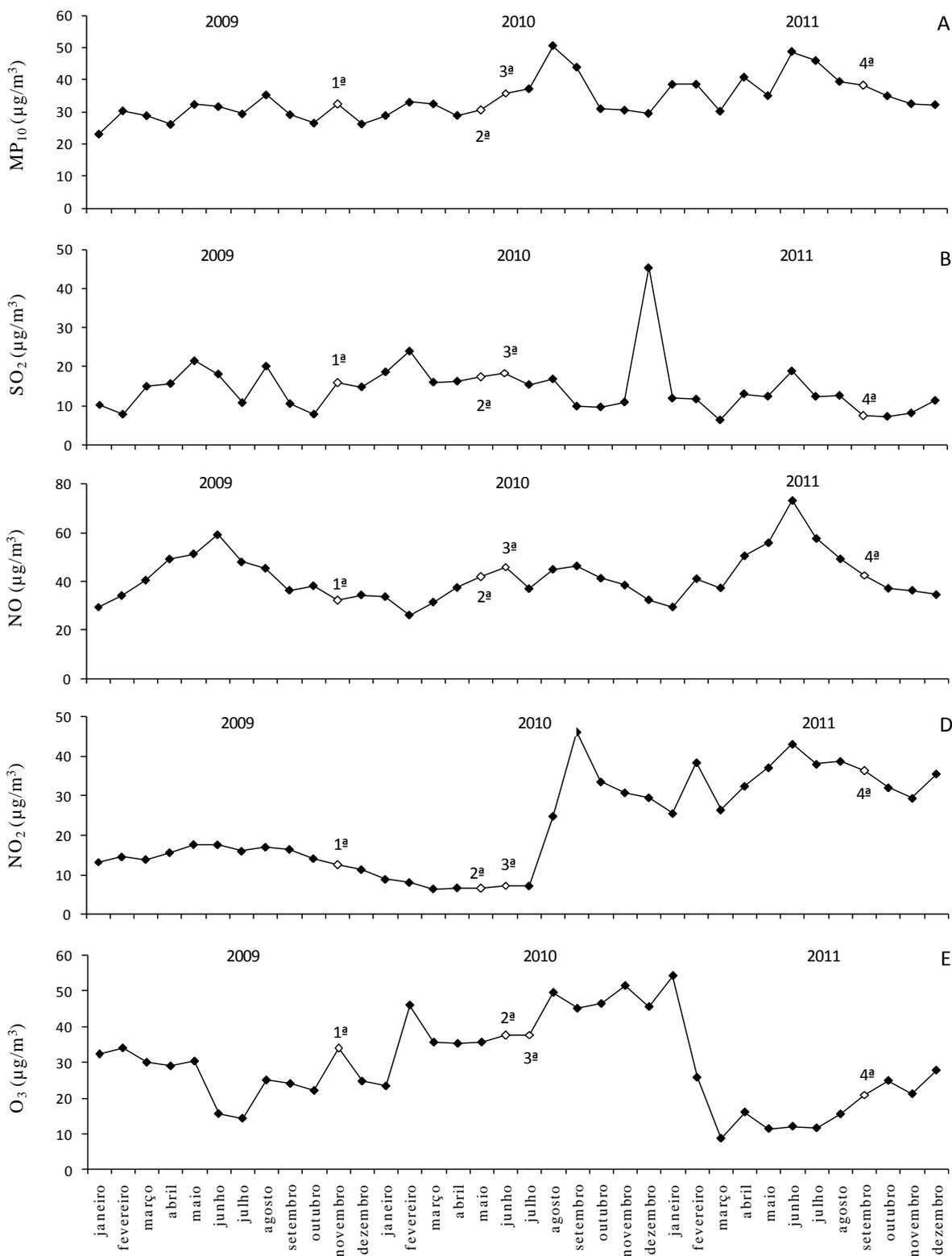
- Woodbury, P.B., Laurence, J.A. & Hudler, G.W.** 1994. Chronic ozone exposure alters the growth of leaves, stems and roots of hybrid *Populus*. *Environmental Pollution* 85: 103-111
- Zagatto, E.A.G., Jacintho, A.O., Reis B.F., Krug F.J., Bergamin Filho H., Pessenda L.C.R., Mortatti, J. & Giné, M.F.** 1981. Manual de análise de plantas e águas empregando sistemas de injeção em fluxo. CENA/USP, Piracicaba.
- Zeevaart, A.J.** 1974. Induction of nitrate reductase by NO. *Acta Botanica Neerlandica* 23: 345-346
- Zheng, Y., Shimizu, H. & Barnes, J.D.** 2002. Limitations to CO<sub>2</sub> assimilation in ozone-exposed leaves of *Plantago major* L. – *New Phytology* 155: 67-78.

## Anexos

---

**Tabela 41.** Valores medianos de Fv/Fm obtidos através do curso diário da fluorescência da clorofila *a* em indivíduos jovens *Psidium guajava* ‘Paluma’ expostos nos meses de janeiro/2011 a abril/2011 (1ª exposição), maio/2011 a agosto/2011 (2ª exposição), agosto/2011 a novembro/2011 (3ª exposição), em câmaras de topo aberto com ar filtrado (AF) e com ar ambiente (AA), nas proximidades da refinaria, em Cubatão/SP. Letras minúsculas indicam diferenças significativas de um mesmo tratamento em períodos distintos de uma mesma exposição (t1- 4ª semana; t2 – 8ª semana; t3 – 11ª semana). EP= erro padrão.

Hora	1ª Exposição				2ª Exposição				3ª Exposição				
	AF	EP	AA	EP	AF	EP	AA	EP	AF	EP	AA	EP	
05:30	T1	*	*	*	*	0,808 a	± 0,002	0,811a	± 0,001	0,814 a	± 0,001	0,814 a	± 0,001
	T2	0,798 a	± 0,002	0,796 a	± 0,002	0,796 b	± 0,002	0,799 b	± 0,001	0,809 ab	± 0,002	0,809 b	± 0,002
	T3	0,792 a	± 0,003	0,793 a	± 0,001	0,802 ab	± 0,001	0,807 ab	± 0,002	0,805 b	± 0,003	0,814 ab	± 0,001
09:30	T1	0,824 a	± 0,001	0,820 a	± 0,001	0,818 a	± 0,002	0,820 a	± 0,001	0,802 b	± 0,003	0,784 b	± 0,005
	T2	0,810 b	± 0,002	0,812 a	± 0,001	0,806 b	± 0,001	0,809 a	± 0,001	0,819 a	± 0,001	0,819 a	± 0,002
	T3	0,768 c	± 0,008	0,760 a	± 0,007	0,794 b	± 0,004	0,793 b	± 0,004	0,754 c	± 0,005	0,770 b	± 0,005
11:30	T1	0,815 a	± 0,002	0,815 a	± 0,002	0,817 a	± 0,002	0,818 a	± 0,001	0,806 a	± 0,003	0,808 a	± 0,002
	T2	0,807 a	± 0,001	0,811 a	± 0,002	0,808 a	± 0,001	0,808 b	± 0,000	0,818 a	± 0,001	0,820 a	± 0,001
	T3	0,756 b	± 0,010	0,779 b	± 0,007	0,759 b	± 0,008	0,781 b	± 0,005	0,767 b	± 0,013	0,776 b	± 0,003
13:30	T1	*	*	*	*	0,818 a	± 0,002	0,820 a	± 0,002	0,818 a	± 0,002	0,820 a	± 0,004
	T2	0,812 a	± 0,002	0,811 a	± 0,002	0,814 a	± 0,002	0,811 b	± 0,001	0,822 a	± 0,001	0,823 a	± 0,001
	T3	0,772 b	± 0,004	0,783 b	± 0,004	0,773 b	± 0,009	0,791 b	± 0,007	0,797 b	± 0,004	0,796 b	± 0,004
15:30	T1	0,823 a	± 0,002	0,819 a	± 0,002	0,820 a	± 0,002	0,819 a	± 0,002	0,824 a	± 0,002	0,823 a	± 0,003
	T2	0,813 a	± 0,001	0,813 a	± 0,002	0,812 a	± 0,001	0,808 b	± 0,001	0,821a	± 0,001	0,824 a	± 0,001
	T3	0,781 b	± 0,002	0,801 b	± 0,002	0,799 b	± 0,005	0,803 b	± 0,005	0,798 b	± 0,004	0,800 b	± 0,002
18:30	T1	0,819 a	± 0,002	0,820 a	± 0,003	0,817 a	± 0,001	0,818 a	± 0,003	0,824 a	± 0,001	0,825 a	± 0,001
	T2	0,814 a	± 0,001	0,809 a	± 0,001	0,808 a	± 0,002	0,808 b	± 0,001	0,819 a	± 0,001	0,822 a	± 0,001
	T3	0,789 b	± 0,002	0,793 b	± 0,002	0,800 b	± 0,002	0,807 b	± 0,003	0,803 b	± 0,003	0,808 b	± 0,001



**Figura 42.** Variação das concentrações mensais de material particulado (A), dióxido de enxofre (B) monóxido de nitrogênio (C), dióxido de nitrogênio (D) e ozônio (E) no centro de Cubatão/SP, durante o período de janeiro/2009 a dezembro/2011. 1<sup>a</sup>, 2<sup>a</sup>, 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> etapas do cronograma da refinaria.