

MARINA SILVA DE BRITO

**Influência das condições meteorológicas e da
concentração de ozônio nas trocas gasosas de
Astronium graveolens Jacq.**

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

SÃO PAULO
2020

MARINA SILVA DE BRITO

**Influência das condições meteorológicas e da
concentração de ozônio nas trocas gasosas de
Astronium graveolens Jacq.**

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

ORIENTADORA: DRA. REGINA MARIA DE MORAES

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

Brito, Marina Silva de
B862i Influência das condições meteorológicas e da concentração de ozônio
nas trocas gasosas de *Astronium graveolens* Jacq. / Marina Silva de Brito --
São Paulo, 2020.
87p.; il.

Dissertação (Mestrado) -- Instituto de Botânica da Secretaria de
Infraestrutura e Meio Ambiente, 2020.
Bibliografia.

1. Trocas gasosas. 2. Ozônio. 3. Condições meteorológicas. I. Título.

CDU: 551.58.91

Dedico este trabalho à minha família:
Ninfa Célia, João Batista e Natalia Brito.

AGRADECIMENTOS

Ao programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente por oferecer este curso e contribuir com projetos e eventos de incentivo à formação e pesquisa científica.

Ao Instituto de Botânica e ao Núcleo de Pesquisa em Ecologia pela infraestrutura fornecida para realização dos experimentos e disciplinas.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio financeiro concedido ao projeto (Processo 16/738-8).

À Dra. Regina Maria de Moraes, inicialmente pela confiança e, por tornar possível a realização deste projeto. Agradeço por todas as conversas, conselhos e ensinamentos que foram passados, pela companhia e ajuda em todas as etapas do projeto, principalmente nos dias de campo. Só tenho a agradecer os momentos agradáveis que passamos juntas durante o projeto, obrigada por compartilhar seu conhecimento e sabedoria.

À Dra. Sílvia por disponibilizar o LABIAP para realização de experimentos teste de fumigação e por sua orientação durante estes experimentos.

À Dra. Mirian Rinaldi pela formidável recepção e orientação durante o estágio no Núcleo de Pesquisa em Ecologia do Instituto de Botânica, que possibilitou conhecer os pesquisadores, alunos, projetos de pesquisa e laboratórios que contribuíram para a minha formação e realização deste mestrado.

Ao Dr. Sérgio Tadeu Meirelles pelo empréstimo do IRGA e pela orientação quanto ao tratamento de dados e estatística.

Ao Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo (IB-USP) por disponibilizar a área de realização do experimento.

Aos colaboradores do Laboratório de Climatologia e Biogeografia do Departamento de Geografia - FFLCH - USP, ao Rogério Rozolen Alves pelo fornecimento dos dados meteorológicos.

À Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB) pelo monitoramento e concessão dos dados de qualidade do ar.

Agradeço a presença e contribuição da banca do exame de qualificação: Adalgiza Fornaro, Catarina Nievola e Mirian Rinaldi.

À minha família, minha mãe Célia, meu pai João e minha irmã Natalia por estarem sempre presentes, me acompanhando e apoiando minhas decisões.

À técnica de laboratório Amariles Souza, ao técnico Alex Nascimento e o estagiário Diego Maia, por toda ajuda durante o experimento.

Aos alunos do Laboratório de Interação Planta e Atmosfera (LABIAP): Igor Lima, Giselle Pedrosa, Michel Filiphy, Nicolas Polizelli, Ricardo Bulgarelli e Victor França pela ajuda durante os experimentos, plantio e cultivo das plantas.

Aos amigos: Camila Araújo, Cássia Bazi, Douglas Dourado, Francine Fernandes, Geane Martins, Isac José, Krysna Morais Marcela Engela, Marisia Esposito, Milton Augusto, Omar Lakis, Regina Calixto, Ruan Oliveira, Simone Oliveira e Solange Brandão por toda ajuda durante o processo seletivo, sobretudo pela companhia e incentivo.

Aos amigos: Aline Xavier, Camila Rivero, Carolina Coelho, Cecília Ferreira, Fernanda Menezes, Gabriela Cabral, Giuliana Ribeiro, Ingrid Catarino, Isabela Pedroni, Matheus Casarini, Santiago Noronha e Wesley Dias, por toda ajuda, companhia e pelos momentos agradáveis.

Aos pesquisadores: Catarina Nievola, Cláudio Barbedo, José Marcos, Mutue Toyota, Nelson Augusto, Rogério Suzuki e Vivian Tamaki, que contribuíram para a minha formação através das disciplinas que foram oferecidas.

Aos demais colaboradores e pesquisadores do Instituto de Botânica.

RESUMO

A ação antrópica vem contribuindo para o aumento dos níveis de poluição da biosfera. O ozônio é um poluente gasoso tóxico para a saúde humana e dos vegetais. Nas plantas, o O_3 entra através dos estômatos, estrutura controlada também por fatores externos, como temperatura, umidade relativa e radiação solar, entre outros. Ao entrar na folha, o O_3 é reduzido e são formadas as espécies reativas de oxigênio, que podem oxidar moléculas vitais, como lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos. A forte oxidação induzida pelo O_3 , pode afetar diversos processos nos vegetais, como as trocas gasosas, com reflexos no crescimento e desenvolvimento. O objetivo deste estudo foi determinar quais fatores ambientais, incluindo a qualidade do ar e os meteorológicos, exercem maior influência nas trocas gasosas da espécie *Astronium graveolens* Jacq.. Esta espécie é nativa da Mata Atlântica e sensível ao O_3 . Indivíduos jovens com cerca de 30 cm de altura foram envasados e expostos de modo padronizado em uma área aberta no Fitotério do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. As taxas de assimilação líquida de carbono (A), condutância estomática (gs), transpiração (E), o déficit de pressão de vapor (DPV), a radiação fotossinteticamente ativa (RFA) e a umidade relativa do solo (URs) foram medidos semanalmente de setembro/2018 até março/2019, em três períodos do dia: manhã (9h às 10h), meio-dia (11h às 12h) e tarde (14h às 15h) em folhas com limbo expandido, referentes ao 3º ou 4º nó a partir do ápice (n=10). Os dados de temperatura do ar (T), umidade relativa do ar (URar), velocidade do vento (VV) e precipitação foram fornecidos pelo Departamento de Geografia da Universidade de São Paulo. A concentração de O_3 foi obtida através de uma estação da Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB), instalada ao lado do local. Foi utilizada uma Análise de Componentes Principais (ACP), que possibilitou identificar correlações entre as variáveis bióticas: A, E, gs, e variáveis abióticas: T, URar, VV, RFA, DPV, URs e concentração acumulada de ozônio. Os dois primeiros eixos de ordenação concentraram 64 % da variabilidade total dos dados. As variáveis que apresentaram maior correlação com o eixo 1 foram: gs (r = 0,45), DPV (r = -0,39), E (r = 0,39), URar (r = 0,37), A (r = 0,36), VV (r = -0,27) e RFA (r = -0,18). No eixo 2, as variáveis correlatas foram: URs (r = 0,47), O_3 (r = - 0,43) e T (r = - 0,39). As variáveis associadas à redução das taxas de trocas gasosas foram: DPV, T, VV e RFA, que apresentaram valores altos principalmente no período da tarde. No período da manhã, as plantas apresentaram taxas mais altas de trocas gasosas, comparando com meio-dia e tarde. As condições meteorológicas, principalmente o DPV, foram desfavoráveis à absorção de O_3 , causando limitação estomática, por isso, mesmo com concentração alta, não houve associação entre O_3 e redução das trocas gasosas, nem manifestação de injúrias foliares visíveis.

Palavras-chave: Trocas gasosas, ozônio, condições meteorológicas.

ABSTRACT

The anthropic action has contributed to the increase of pollution levels in the biosphere. Ozone is a gaseous pollutant toxic to human and plant health. In plants, O₃ enters through stomata, a structure also controlled by external factors, such as temperature, relative humidity and solar radiation, among others. Upon entering the leaf, O₃ is reduced, generating reactive oxygen species, which can oxidize vital molecules, such as lipids, proteins and nucleic acids. The strong oxidation induced by O₃, can affect several processes in plants, such as gas exchange, with reflexes on growth and development. The objective of this study was to determine which environmental factors, including air quality and meteorological factors, have a greater influence on the gas exchange of the species *Astronium graveolens* Jacq .. This species is native of Atlantic Forest and sensitive to O₃. Young individuals about 30 cm tall were potted and exposed on a standard basis in an open area at the Fitotério of the Biosciences Institute of the University of São Paulo. The rates of net carbon assimilation (A), stomatal conductance (gs), transpiration (E), vapor pressure deficit (VPD), photosynthetically active radiation (PAR) and soil relative humidity (SRU) were measured weekly from September/2018 until March/2019, in three periods of the day: morning (9 am to 10 am), noon (11 am to 12 pm) and afternoon (2 pm to 3 pm) in leaves with expanded limbus, referring to the 3rd or 4th node from the apex (n = 10). The data of air temperature (T), relative humidity (RH), wind speed (Ws) and Precipitation were provided by the Department of Geography of the University of São Paulo. The O₃ concentration was obtained through a station of the Environmental Agency of the State of São Paulo (CETESB), installed next to the site. Principal Component Analysis (PCA) was used, which made it possible to identify correlations between biotic variables: A, E, gs, and abiotic variables: T, RH, Ws, PAR, VPD, SRU and accumulated ozone concentration. The first two ordering axes concentrated 64% of the total variability of the data. The variables that showed the highest correlation with axis 1 were gs (r = 0.45), VPD (r = -0.39), E (r = 0.39), RH (r = 0.37), A (r = 0.36), Ws (r = -0.27) and PAR (r = -0.18). In axis 2, the correlated variables were RH (r = 0.47), O₃ (r = - 0.43) and T (r = - 0.39). The variables associated with reduced gas exchange rates were VPD, T, Ws and PAR, which showed high values mainly in the afternoon. In the morning, the plants showed higher rates of gas exchange, compared to midday and afternoon. Meteorological conditions, especially VPD, were unfavorable to O₃ absorption, causing stomatal limitation, therefore, even with high O₃ concentration, there was no association between O₃ and reduced gas exchange, nor manifestation of visible leaf injuries.

Keywords: Gas exchange, ozone, meteorological conditions.

SUMÁRIO

<i>Resumo</i>	i
<i>Astract</i>	ii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	9
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	10
3.1 Espécie estudada.....	10
3.2 Local de exposição.....	10
3.3 Método de cultivo.....	11
3.4 Exposição.....	12
3.5 Trocas gasosas.....	13
3.6 Condições meteorológicas e umidade do solo.....	14
3.7 Concentração de ozônio.....	15
3.8 Sintomas foliares visíveis.....	15
3.9 Análise estatística.....	16
4. RESULTADOS.....	18
4.1 Caracterização das condições meteorológicas e da qualidade do ar.....	18
4.1.1 Condições meteorológicas.....	18
4.2 Qualidade do ar.....	22
4.2.1 Concentração de ozônio.....	22
4.2.2 Material particulado.....	24
4.3 Sintomas foliares visíveis.....	24
4.4 Trocas gasosas.....	25
4.4.1 Assimilação líquida de carbono.....	25
4.4.1.1 Comparação entre dias.....	25
4.4.1.2 Comparação entre horários.....	27
4.4.2 Condutância estomática.....	28
4.4.2.1 Comparação entre dias.....	28
4.4.2.2 Comparação entre horários.....	30
4.4.3 Transpiração.....	32
4.4.3.1 Comparação entre dias.....	32
4.4.3.2 Comparação entre horários.....	33
4.5 Análise de componentes principais (ACP).....	35

5. DISCUSSÃO.....	38
5.1 Condições meteorológicas e formação de ozônio.....	38
5.2 Concentração de ozônio.....	39
5.3 Sintomas foliares visíveis.....	40
5.4 Trocas gasosas.....	41
5.4.1 Assimilação líquida de carbono.....	41
5.4.2 Condutância estomática.....	42
5.4.3 Transpiração.....	44
5.5 Análise multivariada das variáveis bióticas e abióticas.....	44
6. CONCLUSÃO.....	51
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	53
8. ANEXO I.....	66
9. ANEXO II.....	72
10. ANEXO III.....	75

1. INTRODUÇÃO

A biosfera está passando por constante degradação, devido a intensa e desordenada ação antrópica. A poluição atmosférica é um dos efeitos dessa ação. Por meio dela, gases e material particulado são emitidos e chuvas ácidas são formadas na atmosfera, resultando na má qualidade do ar. Todos os seres vivos presentes na biosfera sejam eles animais, seres humanos ou plantas, podem ser prejudicados pelos poluentes atmosféricos (CETESB 2018).

Segundo a Resolução CONAMA nº 491/2018 parágrafo I, poluente atmosférico é definido como: “qualquer forma de matéria em quantidade, concentração, tempo ou outras características, que tornem ou possam tornar o ar impróprio ou nocivo à saúde, inconveniente ao bem-estar público, danoso aos materiais, à fauna e flora ou prejudicial à segurança, ao uso e gozo da propriedade ou às atividades normais da comunidade”.

As fontes de poluição atmosféricas podem ser naturais, como por exemplo: a liberação de dióxido de enxofre (SO_2) por atividade vulcânica e a liberação de gás sulfídrico (H_2S) em processos de decomposição por organismos anaeróbios. Já a fonte antrópica decorre da atividade humana, como a queima de combustíveis fósseis e a atividade industrial (Freedman 1995, Manahan 1999).

As fontes poluidoras de origem antrópica, são classificadas como móveis, como os veículos automotores, ou estacionárias, quando a emissão de poluentes é pontual, como as emissões industriais, a geração de energia e a queima de florestas (Baek *et al.* 1991).

Os poluentes atmosféricos também podem ser classificados como primários e secundários. Os primários são aqueles emitidos diretamente pelas fontes poluidoras, como o dióxido de enxofre, óxidos de nitrogênio, amônia, sulfeto de hidrogênio, monóxido de carbono e material particulado. Os poluentes secundários são aqueles formados a partir de interações entre poluentes primários ou entre constituintes naturais da atmosfera em determinadas condições meteorológicas (temperatura e luminosidade) o ácido nítrico, nitrato de peroxiacetila (PAN) e o ozônio (Freedman 1995, Cançado *et al.* 2006, CETESB 2018).

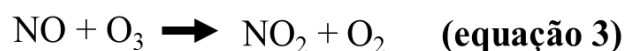
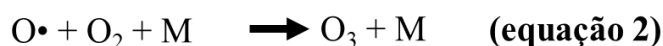
O ozônio está presente em duas camadas da atmosfera. Na troposfera este gás é produzido através de precursores que passam por reações fotoquímicas; é importante ressaltar que esses precursores possuem fontes naturais, porém, a ação humana contribui para o seu aumento. O ozônio troposférico representa 10% deste gás na atmosfera, os outros 90% estão presentes na estratosfera, compondo a camada de ozônio que filtra os raios ultravioleta, prejudiciais aos seres vivos. O ozônio presente na troposfera é resultado da formação

fotoquímica que ocorre no local em que são formados seus precursores, esse gás pode ser transportado de uma região à outra, o O₃ formado nas grandes metrópoles pode ser transportado até áreas rurais ou áreas que tenham pouca influência antrópica (Bermejo *et al.* 2010).

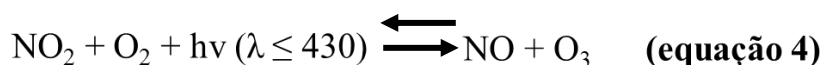
O ozônio troposférico é um poluente secundário, é considerado um forte oxidante, sendo um poluente danoso aos seres vivos (CETESB 2018). Além disso, é um gás de efeito estufa (GEE) pois, apresenta o potencial de modificar a transferência radiativa, alterando o balanço energético do planeta e afetando o clima em todo o globo terrestre, este poluente também é responsável por 7% das contribuições para o aquecimento global (Krupa *et al.* 2001, IPCC 2013).

O O₃ é formado a partir reações fotoquímicas que ocorrem na atmosfera em resposta à transferência de energia da radiação solar envolvendo substâncias precursoras, como os NO_x e os compostos orgânicos voláteis (COV) que são emitidos principalmente, durante a queima de combustíveis fósseis. Importante ressaltar que as emissões veiculares, vapores de solventes químicos e industriais são as principais fontes de COV antropogênicos. A formação do O₃ ocorre principalmente em locais urbanos (Freedman 1995, Sawyer *et al.* 2000).

Em uma atmosfera não poluída a formação do O₃ pode ocorrer da seguinte forma:



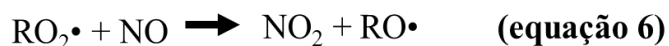
Equilíbrio fotoestacionário



Na equação 1, ocorre a decomposição do dióxido de nitrogênio (NO₂) em função da radiação solar $h\nu (\lambda \leq 430)$, gerando monóxido de nitrogênio (NO) e oxigênio atômico (O[•]). A equação 2, representa a reação entre uma molécula inerte que absorve energia (M), uma molécula de gás oxigênio (O₂) e o oxigênio atômico (O[•]), produzindo O₃. A equação 3, demonstra a reação entre monóxido de nitrogênio (NO) e O₃, regenerando o NO₂ e O₂. Nesta situação, as reações encontram-se em um equilíbrio fotoestacionário, ou seja, os produtos das reações reagem entre si regenerando os reagentes (equação 4). Importante salientar que na atmosfera não poluída, não há o acúmulo de O₃, pois ele reage com seus precursores na mesma

proporção em que é formado pelos mesmos (equação 3) (Freedman 1995, Krupa & Manning 1988, Kley *et al.* 1999).

Em uma atmosfera poluída, ocorrem algumas mudanças na formação do ozônio. Acontece a perda do equilíbrio fotoestacionário devido a reações com outros poluentes primários, como é o caso dos COVs de origem biogênica ou antropogênica, no último caso, deriva predominantemente da emissão veicular (Ashmore 2005).



Os COV de fontes antrópicas e/ou biogênicas na presença de radiação solar podem reagir com radicais hidroxila ($\text{OH}\cdot$) encontrados na atmosfera, originando o radical peróxi ($\text{RO}_2\cdot$) (equação 5). Este radical tem o potencial de oxidar NO, formando NO_2 (equação 6) com isso, impede o consumo de O_3 (equação 3) favorecendo o seu acúmulo na atmosfera (Freedman 1995, Krupa & Manning 1988, Kley *et al.* 1999). Os COV também podem favorecer o acúmulo de O_3 por aumentarem o potencial oxidativo da atmosfera ao reagir com NO_x , evitando a conversão de O_3 (Sawyer *et al.* 2000). A concentração de ozônio e sua distribuição em determinado local, são influenciadas pela localização das fontes emissoras de seus precursores (NO_x e COV) (Yuval & Broday 2006, Levy *et al.* 2014). Além disso, a formação de ozônio depende de condições meteorológicas favoráveis para que as reações fotoquímicas ocorram, altas concentrações de O_3 são observadas em dias quentes com alta intensidade luminosa (CETESB 2018).

A entrada de ozônio na folha ocorre através dos estômatos quando os mesmos realizam as trocas gasosas de CO_2 e água. Estes pequenos poros são controlados sobretudo pela planta e em respostas a fatores abióticos. A condutância estomática possui grande importância, sendo um dos principais determinantes da evapotranspiração e dos ciclos de água e carbono do planeta (Lin *et al.* 2015).

O apoplasto é o primeiro local onde ocorre a formação e ação das espécies reativas de oxigênio (ERO), que são consideradas indutoras das respostas celulares (Overmyer *et al.* 2009). Essas moléculas apresentam oxigênio em sua formulação e podem oxidar moléculas vitais como lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos (Foyer & Noctor 2005, Iriti & Faoro 2008, Heath 2009). Importante ressaltar que as ERO são produzidas de forma natural nas plantas em função dos processos metabólicos, no entanto, o excesso dessas substâncias pode prejudicar o desenvolvimento vegetal (Gill & Tuteja 2010).

O estresse oxidativo induzido pelo O_3 pode afetar vários processos realizados pela planta, como o metabolismo primário e secundário, antecipação da senescência foliar, manifestação de cloroses e necroses foliares em espécies sensíveis, controle estomático, diminuição do crescimento e da produtividade, diminuição significativa no rendimento de grãos e na produção de biomassa (Fumagalli *et al.* 2001, Krupa *et al.* 2001, Novak *et al.* 2003, Gimeno *et al.* 2004, Pleijel *et al.* 2004, Ashmore 2005, Bussotti *et al.* 2005, Paoletti 2007, Ainsworth *et al.* 2012). A magnitude e o tipo de resposta do vegetal dependem das características da exposição e do poder de desintoxicação da espécie (Klumpp *et al.* 2006). Espécies mais sensíveis têm um sistema antioxidante com menor capacidade de neutralização, portanto, entram em estresse oxidativo com facilidade (Foyer & Noctor 2005, Halliwell & Gutteridge 2006).

O sistema antioxidante é formado por compostos enzimáticos: superóxido dismutase, catalase, ascorbato peroxidase, glutathione peroxidase, peroxiredoxina e não enzimáticos, como: ácido ascórbico, glutathione, carotenoides, compostos fenólicos e carboidratos (Long & Naidu 2003, Ma *et al.* 2011). Os sistemas antioxidantes são de suma importância, pois protegem o aparato fotossintético, removendo as ERO, atuando na preservação de membranas e proteção de biomoléculas contra possíveis danos em suas estruturas (Halliwell & Gutteridge 2006).

As espécies reativas de oxigênio provenientes da oxidação do ozônio, podem afetar tanto a síntese quanto a atividade da ribulose 1,5-bisfosfato carboxilase-oxigenase (Rubisco). Esta enzima possui grande sensibilidade ao ozônio, por isso, tem sua atividade e síntese reduzidas (perda de mRNA em suas subunidades) (Pell *et al.* 1994).

Em outros estudos, foram observados danos aos fotossistemas, ocasionando principalmente na redução de sua eficiência fotoquímica (Heath *et al.* 2009, Li *et al.* 2017).

A redução da síntese e da atividade da Rubisco resulta no aumento da concentração interna de CO_2 , causando a redução da condutância estomática pelo fato da planta não possuir a capacidade no momento de dar continuidade no processo de carboxilação (Pell *et al.* 1997, Bortier *et al.* 2000). A condutância estomática possui extrema relevância, pois determina a concentração de ozônio que efetivamente entrará na planta (CLRTAP 2017). As espécies que apresentam condutância estomática alta são expostas a concentrações mais elevadas de O_3 do que as que apresentam condutância baixa, dada uma mesma concentração de ozônio no ar (Emberson *et al.* 2000). O fechamento estomático é considerado uma forma de proteção ao poluente, embora essa ação possa causar redução da taxa fotossintética, tendo em vista a permanência dos estômatos fechados (Buchanan *et al.* 2015).

As condições ambientais, incluindo os fatores meteorológicos, afetam o movimento estomático, interferindo nas trocas gasosas. São determinantes à exposição das plantas aos poluentes, pois caso as condições meteorológicas forcem o fechamento estomático, mesmo com

altas concentrações de O₃, a planta não captará a real concentração presente no ambiente (Klumpp 2006).

A qualidade do ar na cidade de São Paulo está relacionada principalmente à quantidade de emissões de poluentes atmosféricos de origem veicular, principalmente, visto que sua frota é de mais de nove milhões de veículos automotores (DETRAN 2019).

Segundo o relatório de emissão veicular da CETESB (2018), a qualidade do ar nas grandes cidades de São Paulo, ainda apresenta níveis altos de poluentes como O₃ e material particulado. Os caminhões são os maiores emissores de MP, NO_x e SO₂. Os NO_x são uma combinação de nitrogênio e oxigênio que se formam devido à alta temperatura na câmara de combustão dos veículos automotores. Na atmosfera eles participam na formação de NO₂ e na formação do “smog” fotoquímico.

Para monitorar as concentrações de poluentes e propor metas de melhoria da qualidade do ar, foram concebidas algumas legislações. Atualmente, a legislação para o controle dos poluentes atmosféricos em nível nacional é estabelecida pela Resolução nº 491/2018 do Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA), que estabelece que a concentração média de ozônio pelo período de 8 horas não deve ultrapassar 140 µg/m³ (71 ppb). O Decreto Estadual nº 59.113/2013 estabelece o mesmo valor para o estado de São Paulo. É importante ressaltar que estas concentrações foram estabelecidas visando apenas a saúde humana.

Em outros países visando a proteção da vegetação, foram estabelecidos níveis críticos de ozônio. Um dos primeiros se baseia na concentração acumulada acima de um limite, a AOT - Accumulated exposure Over a Threshold (Pleijel *et al.* 2002). A AOT40 (Accumulated ozone exposure over the threshold of 40 ppb h), traduzido para o português, EAO40 (Exposição acumulada de ozônio acima do limite de 40 ppb h) é um índice que considera a exposição acumulada de O₃ e possui grande utilização na Europa. A EAO40 difere de outros índices, que são baseados em concentrações médias, esses índices assumem que todas as concentrações pertencentes à média tenham o mesmo efeito sobre as plantas, o que pode não ser verdade, o efeito das concentrações médias neste caso pode ser menor sob as plantas (CPRTAP 2017).

A espécie utilizada no presente estudo, *Astronium graveolens* Jacq., é considerada uma espécie secundária e apresenta grande ocorrência na Floresta Estacional Semidecídua, Floresta Ombrófila Densa e Mista, além das matas ciliares (Lorenzi 2002, Guaratini *et al.* 2008). Esta espécie possui grande importância, pois é amplamente utilizada em projetos de recuperação de áreas degradadas (Hiram-Jr 2010).

Domingos *et al.* (2015), apontaram-na como espécie arbórea bioindicadora de O₃, adequada ao biomonitoramento passivo na região metropolitana de Campinas, SP. Nesse estudo, indivíduos de *A. graveolens* apresentaram lesões causadas por distúrbios bioquímicos,

baixa capacidade de neutralização das ERO pelos antioxidantes e acúmulo de metabólitos secundários nas folhas. Outros estudos com a mesma espécie mostraram que a exposição ao ozônio reduz a atividade fotossintética e o crescimento, produz sintomas foliares visíveis e está associada ao processo de aceleração da abscisão foliar (Moura *et al.* 2014, Cassimiro 2015, Domingos *et al.* 2015, Cassimiro *et al.* 2016, Cassimiro & Moraes 2016, Fernandes *et al.* 2016).

Em espécies sensíveis, a exposição ao ozônio induz a formação de danos à membrana celular e organelas, podendo ocasionar o rompimento de cadeias metabólicas e até à morte celular. Devido a esses efeitos celulares, podem surgir lesões visíveis nos tecidos foliares como cloroses e necroses. Em outras espécies, os sintomas visíveis são representados por pontuações e pigmentações resultantes do acúmulo de compostos do metabolismo secundário (Sanz *et al.* 2002).

As injúrias foliares induzidas pelo ozônio em *A. graveolens*, são decorrentes da oxidação da parede celular e de protusões presentes no apoplasto. Nos tecidos, a injúria é caracterizada pela oxidação de compostos fenólicos presentes em células do parênquima paliádico, essa oxidação representa a ativação de mecanismos endógenos de proteção (Fernandes 2015).

Visivelmente, estas injúrias são descritas como pequenas pontuações acastanhadas, em meio a outras descoloridas, estão presentes em maior quantidade na parte adaxial da superfície das folhas. (Moura *et al.* 2014, 2018). A utilização dos sintomas foliares visíveis como resposta bioindicadora apresenta grandes vantagens, pois pode ser utilizado em campo sem necessitar de medidas laboratoriais complexas e equipamentos caros.

Esses sintomas são utilizados no biomonitoramento, a partir desta ferramenta é possível avaliar as condições ambientais de determinado local através de respostas bióticas advindas da exposição de um ser vivo. Uma espécie bioindicadora sensível, é aquela que exhibe sintomas na existência de modificações biológicas ou abióticas de um ambiente. O biomonitoramento pode ser ativo, quando há a inserção de indivíduos cultivados e padronizados em local específico ou, pode ser passivo, quando são utilizados organismos do próprio local de interesse (Klumpp 2001, De Termmerman *et al.* 2003).

O biomonitoramento é importante, pois possibilita a delimitação de áreas sob concentrações fitotóxicas, a detecção de níveis de poluição crônica e a avaliação dos riscos impostos às espécies e à vegetação (Arndt & Schweizer 1991). Este tipo de monitoramento é muito utilizado para avaliar os impactos da poluição sob os ecossistemas, as respostas biológicas a determinado estresse, podem auxiliar no estabelecimento de níveis seguros de exposição ao fator de estudo. A utilização de espécies nativas pode aumentar a precisão dos resultados obtidos.

Durante a realização de experimentos com biomonitoramento de espécies vegetais, é interessante além de realizar o monitoramento das concentrações de poluentes, monitorar as condições meteorológicas, pois essas podem influenciar na resposta biológica das plantas, inclusive alterar as trocas gasosas.

Fatores ambientais como umidade do ar, temperatura, déficit de pressão de vapor, umidade do solo e velocidade do vento em conjunto com fatores bióticos da planta, podem modular a condutância estomática, determinando a quantidade de O₃ que será absorvida pela folha (Klumpp *et al.* 2006, Heath *et al.* 2009, CLRTAP 2017).

A temperatura é um dos efeitos mais importantes da radiação solar em nosso planeta, nas plantas, tem grande importância em diversos processos, como no aquecimento das folhas, aumento da transpiração, podendo interagir com enzimas do processo de fotossíntese e respiração (Li *et al.* 2017, Atkin *et al.* 2015). Na fotossíntese, o aumento da temperatura até determinado limiar, é benéfico, estimulando o processo até atingir o ponto ótimo, caso ocorra o aumento excessivo da temperatura, podem ocorrer queda na taxa fotossintética e efeitos deletérios, sendo alguns reversíveis (Taiz & Zeiger 2009).

Ao reconhecer o aumento prejudicial da temperatura, as plantas induzem respostas ao estresse térmico, que é reconhecido por sensores localizado em diversos constituintes celulares (membrana plasmática, núcleo, citosol e retículo endoplasmático) desencadeando cascatas de sinalização (Mittler 2006).

Estudos apontam o fechamento estomático em indivíduos de *Nicotiana tabacum* e *Arabidopsis sp* expostos a condições de seca e estresse térmico por temperaturas altas, essa ação foi responsável por causar o aumento da temperatura foliar a partir da redução da transpiração (Rizhsky *et al.* 2002, 2004). Temperaturas altas podem desencadear estresse oxidativo nas plantas através do aumento da produção de espécies reativas de oxigênio, como forma de proteção, a planta pode aumentar a produção de enzimas, compostos não enzimáticos, antioxidantes e hormônios para atuar no equilíbrio oxidante, minimizando os efeitos (Qu *et al.* 2013).

O vento é outro fator importante, correspondem à movimentos de ar no sentido horizontal provenientes de gradientes de pressão, sua intensidade e direção são determinadas pela variação espacial e temporal do balanço de energia na superfície terrestre. O vento em velocidades baixas a moderada, auxilia na renovação do suprimento de CO₂ e na manutenção da transpiração dos vegetais. Em velocidades altas, pode aumentar a transpiração das plantas, provocando o fechamento estomático, e posterior queda nas taxas fotossintéticas (Pereira *et al.* 2002).

A velocidade dos ventos pode afetar a transpiração, absorção de CO₂ e desempenha efeito mecânico sobre as folhas e ramos. A transpiração pode aumentar até determinado momento em função da velocidade do vento, temperatura, e da umidade do ar também influenciam nesta dinâmica (Mota 1983). Em algumas vezes o vento pode causar estresse hídrico nas folhas das copas das árvores, respostas rápidas envolvendo o controle estomático e osmótico acontecem, para manter em equilíbrio o potencial hídrico das folhas (Telewski 1995, White *et al.* 2000, Iogna *et al.* 2013). Os ventos fortes podem aumentar a condutância da camada limítrofe foliar e o déficit de pressão de vapor, aumentando a perda de água pela planta (Daudet *et al.* 1999, Kim *et al.* 2014).

O déficit de pressão de vapor (DPV) corresponde à diferença entre a pressão exercida pela quantidade de vapor d'água existente no ar e a pressão máxima que pode ser alcançada em determinado ambiente (Viera 2009). A relação entre a condutância estomática e o DPV é inversamente proporcional, o seu aumento pode limitar a abertura dos estômatos (Urban *et al.* 2012, Lin *et al.* 2015).

O fechamento estomático ocorre muitas vezes devido ao aumento exacerbado da transpiração, promovida pelo alto DPV, a planta pode não conseguir transportar água na velocidade que é exigida pelas folhas, o alto DPV provoca um aumento na translocação de água das raízes para a parte aérea. Em situações que a condutância estomática é reduzida, as taxas fotossintéticas caem, isto ocorre principalmente a partir do meio-dia, quando altos valores de DPV, foram registrados (Emberson *et al.* 2000, Franco & Lüttge 2002, Prado *et al.* 2004, Medlyn *et al.* 2007). Queda na transpiração também foi observada em plantas em condições de alto DPV e estresse hídrico por falta de água, ocasionada pela redução no fluxo de vapor d'água do interior da câmara sub-estomática (Gucci *et al.* 1996).

A radiação fotossinteticamente ativa (RFA) é uma fração da radiação solar global que está associada ao desenvolvimento da planta, como por exemplo: à produção de biomassa, à morfologia vegetal, taxa fotossintética e condutância, sendo também essencial em estudos ecológicos (Brock 1981, Ackerly & Bazzaz 1995). O excesso de luz pode inibir as atividades do fotossistema II, causando fotoinibição (Murata *et al.* 2007). Em diversos estudos, o aumento da radiação solar associada a outras condições meteorológicas estressantes às espécies vegetais, induziu o fechamento estomático, causando redução nas trocas gasosas e na concentração interna de CO₂ (Daudet 1999, Pina & Moraes 2010, Favaretto *et al.* 2011).

A umidade relativa do solo é a razão entre a quantidade de água existente no solo e a quantidade máxima de água suportada pelo solo. Ao passar por estresse hídrico (seca) a planta pode apresentar fechamento estomático (Díaz-Espejo *et al.* 2007), com o intento de aumentar a eficiência do uso da água em seus sistemas. Em estudo realizado por Tardieu & Davies (1992),

plantas expostas ao déficit de umidade do solo apresentaram evidências de ação hormonal com a função de reduzir a abertura dos estômatos, assim, retendo água e reduzindo a entrada de CO₂.

A deficiência hídrica em espécie arbórea foi responsável por redução da fotossíntese devido ao fechamento estomático (Syvertsen & Lloyd, 1994), esse tipo de estresse associado a altas temperaturas e alto déficit de pressão de vapor causou decréscimo nas taxas de fotossíntese (Brakke & Allen 1995, Medina *et al.* 1998).

A umidade relativa do ar é a razão entre a quantidade de água existente no ar (umidade absoluta) e a quantidade máxima suportada pelo ar, indicando quão próximo o ar está da saturação. Esta variável ambiental relaciona-se com a demanda evaporativa atmosférica, seus extremos podem ser prejudiciais às plantas. Umidade relativa abaixo de 60% pode aumentar a taxa de transpiração e acima de 90% pode comprometer a absorção de nutrientes em resultado da queda na transpiração (Duarte 2004).

Todas essas variáveis ambientais supracitadas, apresentam relação direta com o controle estomático das plantas, podendo reduzir suas trocas gasosas. Estudos já realizados comprovam que umidade, temperatura do ar, DPV, umidade do solo e velocidade do vento em conjunto com fatores biológicos modulam a condutância estomática, determinando a concentração de O₃ que será absorvida pela planta (Klumpp *et al.* 2006, Heath *et al.* 2009, CLRTAP 2017).

2. OBJETIVOS

O objetivo geral deste trabalho foi avaliar o potencial da espécie como bioindicadora de ozônio. Como objetivo específico, determinar quais fatores ambientais, dentre os que indicam a qualidade do ar e os meteorológicos, exercem maior influência nas trocas gasosas e nos sintomas foliares visíveis.

A hipótese deste estudo é que o ozônio é o principal fator associado à redução das trocas gasosas de CO₂ e água e ao aparecimento de injúrias foliares visíveis em indivíduos jovens de *Astronium graveolens* expostos às condições ambientais da cidade de São Paulo e, por isso é uma espécie adequada ao biomonitoramento.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Espécie estudada

Astronium graveolens Jacq., conhecida popularmente como guaritá, é uma espécie da família Anacardiaceae, cuja ocorrência se estende do México até o Paraguai. É uma espécie secundária que pode atingir de 15 a 25 m de altura e de 40 a 60 cm de diâmetro (Lorenzi 2002, Ribeiro *et al.* 2005). Apresenta folhas compostas, imparipinadas com folíolos opostos.

No Brasil é amplamente distribuída, ocorrendo desde o sul da Bahia até a região Sul nas formações florestais do complexo atlântico do país e na floresta latifoliada semidecidual (Barkley 1968). Entretanto, há registros de ocorrência em diversos biomas: Pampa, Amazônia (Floresta Ombrófila), Cerrado (Cerradão, Floresta Ciliar), Caatinga e Mata Atlântica (Floresta Ciliar, Estacional Semidecidual, Floresta Ombrófila) (Silva & Pirani 2013). Nos fragmentos florestais da região sudeste, é uma das espécies com maior valor de importância devido sua grande ocorrência, sendo por isso empregada na recuperação de ecossistemas (Hiram-Jr 2010).

A espécie do presente estudo foi descrita como sensível ao O₃ e com potencial bioindicador em condições de campo (Domingos *et al.* 2015, Cassimiro *et al.* 2016) e em câmaras com concentração controlada de O₃ (Moura *et al.* 2014, 2018).

3.2 Local de exposição

O estudo foi realizado na Cidade Universitária Armando de Salles Oliveira (23°33'58''S, 46°43'53''W), campus Butantã da Universidade de São Paulo (USP), zona oeste da capital paulista, no Fitotério do Instituto de Biociências. Próximo ao local (cerca de 500 metros) existe uma estação de monitoramento da qualidade do ar da CETESB localizada no Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN-USP), e também, a cerca de 1.000 metros, a estação meteorológica do Laboratório de Climatologia e Biogeografia que pertence ao Departamento de Geografia da USP (Figura 1).



Figura 1: Imagem de satélite do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, destacando o local de exposição das plantas, a estação de monitoramento da qualidade do ar da CETESB e a estação meteorológica do Departamento de Geografia (Fonte: Google, 2020).

3.3 Método de cultivo

Indivíduos jovens de *Astronium graveolens* com cerca de 30 cm de altura, foram adquiridos do viveiro de mudas florestais “Camará”, localizado no município de Ibaté (SP). As mudas saudáveis e uniformes possuíam bom estado fitossanitário e já estavam aclimatadas ao sol.

As mudas foram transplantadas para vasos de 8,0 litros, utilizando uma mistura de substrato comercial (Tropstrato HT Hortalças – Vida Verde®) e vermiculita fina na proporção 3:1. Durante o plantio, foi acrescentado 20 g de Osmocote 14-14-14 (adubo de liberação lenta). As plantas foram adubadas a cada 2 meses com 150 mL de solução nutritiva de NPK (20-20-20) durante o experimento.

As plantas permaneceram em casa de vegetação por 55 dias para recuperação do transplante. A casa de vegetação é equipada com filtro de carvão ativado (Veco®, BR) para retirada de gases, filtros de lã de vidro e de papel para retirada de partículas e possui ar condicionado para controle interno de temperatura (Figura 2).



Figura 2: Indivíduos jovens de *Astronium graveolens* em casa de vegetação com ar filtrado situada no Instituto de Botânica de São Paulo, São Paulo, SP.

3.4 Exposição

Após permanecerem em casa de vegetação, as plantas (n=20) foram levadas até a área de estudo, (Figura 3 A e B), onde ficaram expostas ao ambiente, interagindo com as condições meteorológicas e com a concentração atmosférica de poluentes.

As plantas foram expostas a pleno sol, os vasos foram apoiados em suportes de alumínio com aproximadamente 70 cm de distância do solo, onde foram colocadas caixas plásticas com água para a irrigação por capilaridade. Cordões de náilon foram inseridos no interior dos vasos, uma extremidade ficou em contato com as raízes e outra extremidade mergulhada na água. Em cima das caixas foram colocadas telas de arame que serviram de apoio para sustentar os vasos. As grades foram cobertas com plástico preto (Figura 3 A e B) para evitar o contato de insetos com a água e, assim, a reprodução dos mesmos.

No mês de outubro de 2018 houve um ataque de lagartas às plantas. Foi necessária a utilização da substância denominada Dipel®, que possuía em sua composição, microrganismos que atuaram no controle biológico das lagartas.

No estado de São Paulo, as maiores concentrações de ozônio e consequentemente a maioria dos dias com ultrapassagem do padrão estadual, geralmente, são observadas no período de primavera e verão, devido às condições meteorológicas favoráveis a formação deste poluente (CETESB 2018). Devido a isso, e por ser o período de crescimento das plantas, o experimento ocorreu de setembro de 2018 até março de 2019, período de primavera – verão. As visitas ao local do experimento foram semanais, durante o período supracitado.

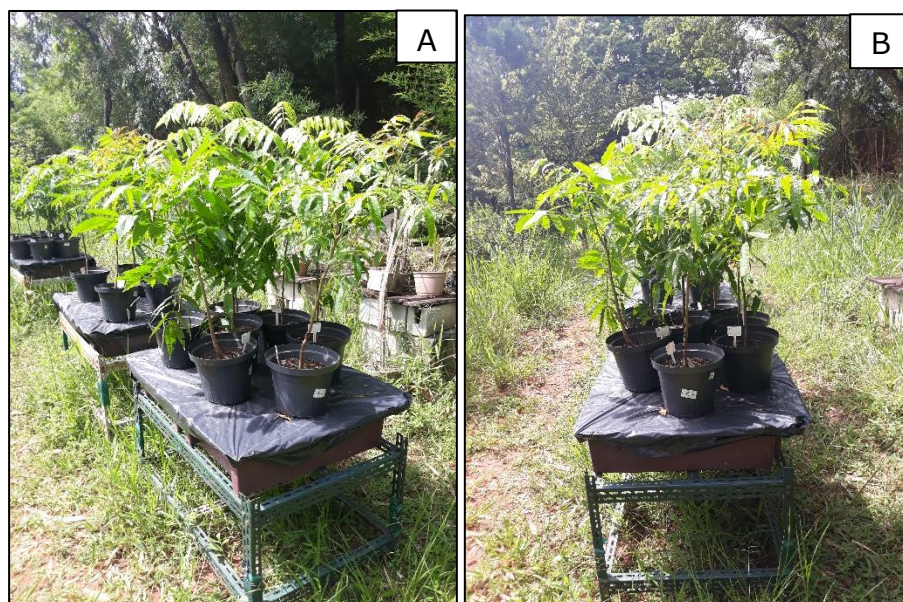


Figura 3: A e B) Indivíduos de *Astronium graveolens* expostos no Fitotério do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.

3.5 Trocas gasosas

A assimilação líquida de carbono ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$), condutância estomática ($\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$), transpiração ($\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) e o déficit de pressão de vapor (kPa) foram medidos semanalmente (Figura 4 A e B) durante o experimento, nos períodos da manhã: 9h às 10h, do meio-dia: 11h às 12h e no período da tarde: 14h às 15h.

Para realizar essas medidas, foi utilizado um analisador portátil de gases por infravermelho (LI-6400, LI-COR, NE, USA). O equipamento operou em condições ambientais de temperatura do ar, umidade relativa do ar e radiação fotossinteticamente ativa. O CO_2 foi fixado em 400 ppm e utilizou-se uma fonte de luz (02B - LED Light Source, LI-COR). O LI-6400 também foi utilizado para medir a radiação fotossinteticamente ativa ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) durante as medições das trocas gasosas.

Utilizaram-se sempre as mesmas plantas ($n=10$) para realização das medidas, que foram feitas em folhas com o limbo totalmente expandido, referentes ao 3º ou 4º nó a partir do ápice. Ao colocar o folíolo de cada indivíduo dentro da câmara de medida, esperou-se três minutos para que acontecesse a aclimação do folíolo à câmara e suas condições, obtendo estabilidade para realizar as medidas. Após a estabilização, foram feitas 6 medidas das trocas gasosas a cada 10 segundos, essas medidas foram utilizadas para calcular a média de cada planta.

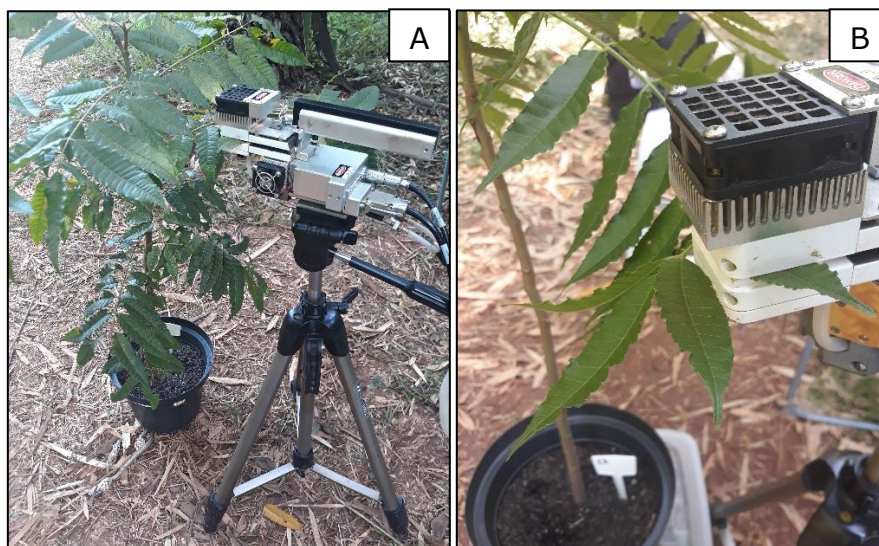


Figura 4: A e B) Realização das medidas das trocas gasosas em *Astronium graveolens*, utilizando o analisador portátil de gases por infravermelho.

3.6 Condições meteorológicas e umidade relativa do solo

Os dados de temperatura do ar (°C), umidade relativa do ar (%), velocidade do vento (m/s) e precipitação pluviométrica (mm), foram fornecidos pela estação meteorológica do Laboratório de Climatologia e Biogeografia do Departamento de Geografia da USP, que está localizada a cerca de 1000 metros do local de exposição das plantas. Foram calculadas as médias, máximas e mínimas diárias de temperatura; quanto à umidade relativa do ar, foram calculadas as médias e mínimas diárias; foi calculado o volume diário da precipitação pluviométrica. Em relação à radiação fotossinteticamente ativa e velocidade do vento, foram calculadas as médias e máximas diárias dos dias de medidas.

A umidade relativa do solo de cada vaso foi obtida com o equipamento Mini Trase (Soilmoisure Inc. CA, USA) conforme a Figura 5. O equipamento possui uma sonda de 5 cm, que realiza a medição da umidade do solo em função do tempo de reflexão de pulsos elétricos, método denominado TDR ou reflectometria no domínio do tempo (Oliveira Filho *et al.* 2000). Foi calculada a média da umidade relativa do solo, utilizando três medidas de pontos diferentes do substrato no vaso.



Figura 5: Medição da umidade relativa do solo pelo método TDR com um Mini Trase.

3.7 Concentração de ozônio

A estação Cidade Universitária USP – IPEN, foi instalada no ano de 2007, e desde então, monitora ininterruptamente as concentrações do ozônio (O_3) e material particulado (partículas inaláveis finas, $< 2,5 \mu m$). Esta estação encontra-se a cerca de 500 metros do local de exposição das plantas. Os dados horários das concentrações de O_3 foram obtidos através do site da CETESB (www.cetesb.sp.gov.br). Após a obtenção dos dados, e a partir das concentrações horárias, foi calculada a média e a máxima pelo período de 8 horas, das 12h às 19h. Este horário segue os princípios do ciclo diário do O_3 , obtendo concentrações baixas no início da manhã, que aumentam conforme o dia devido as condições meteorológicas (elevação da radiação e da temperatura) (EPA 2006).

Com as concentrações horárias de O_3 foi calculada a EAO40 (exposição acumulada de ozônio acima de 40 ppb por hora) no período das 6h às 19h. Para calcular este índice, toda a concentração horária excedente a 40 ppb foi somada. Este índice foi proposto para proteção à vegetação de regiões temperadas (Fuhrer *et al.* 1997). No Brasil, ainda não foram criados índices para a proteção da vegetação local.

3.8 Sintomas foliares visíveis

Os sintomas foliares visíveis induzidos pelo O_3 em *A. graveolens* constituem pequenas pontuações escuras descritas por Moura *et al.* (2014, 2018) em experimento de fumigação com O_3 e por Cassimiro & Moraes (2016), em condições de campo. Semanalmente foi feita a observação dos sintomas foliares visíveis nas plantas expostas ao ar ambiente ($n= 20$). Esta observação teve o intuito de determinar o número de plantas afetadas e o número de folhas afetadas por planta. Um lote de plantas foi mantido em casa de vegetação com ar filtrado como

uma referência para os sintomas foliares ($n = 20$). Para classificar os sintomas foliares como induzidos pelo O_3 foi utilizada a literatura de referência (Novak *et al.* 2003).

3.9 Análise estatística

No tratamento das médias das trocas gasosas (A , gs , E), os valores passaram inicialmente por um teste de variância não paramétrico (Kruskal-Wallis e Runk Sum) para avaliar a presença de diferenças estatísticas entre os dias e horários amostrados ($p > 0,05$). Na presença de diferença significativa dentro do grupo amostral ($p < 0,05$), foi utilizado o teste de Dunn's para localizar os dias e horários que apresentaram diferenças significativas. Estas análises foram realizadas através do software estatístico Sigma Plot11 (SYSTAT Software Inc.[®]). Utilizou-se um método não paramétrico porque os dados não atenderam aos critérios necessários para o emprego de testes paramétricos.

As variáveis bióticas utilizadas na composição da análise de componentes principais (ACP) foram: assimilação líquida de CO_2 (A), condutância estomática (gs) e transpiração (E). Como variáveis abióticas, foram consideradas a temperatura do ar (T), umidade relativa do ar ($URar$), déficit de pressão de vapor (DPV), radiação fotossinteticamente ativa (RFA), umidade relativa do solo (URs), velocidade do vento (VV) e concentração de ozônio ($EAO40$).

Esta análise estatística tem como objetivo, identificar as associações entre variáveis bióticas (trocas gasosas) e abióticas (concentração de O_3 e condições meteorológicas), refletindo uma hierarquização dos fatores responsáveis por essas associações.

É importante ressaltar que foram utilizados dados de todas as variáveis obtidos durante o horário das medidas das trocas gasosas, com exceção da concentração de ozônio, em que foi usada a $EAO40$, a concentração acumulada até os dias de medidas das trocas gasosas.

Em relação a ACP, os valores das trocas gasosas passaram por uma retirada de números muito discrepantes ("outliers"), através do método z-scores, ou seja, do valor real desses números foi subtraída a média do conjunto de valores, logo após, o resultado foi dividido pelo desvio padrão. Valores que apresentaram z-scores inferiores a -1,5 ou superiores a 1,5 foram considerados "outliers", sendo excluídos dos conjuntos de dados (Tripathy *et al.* 2013).

Após a retirada de "outliers" dos dados das trocas gasosas, esses valores foram unidos com as outras variáveis para compor uma matriz de correlação, sendo possível, avaliar a intensidade e direção da relação linear entre as variáveis do estudo.

Para realizar este tratamento estatístico, a matriz original de valores passou por uma escalarização entre 0 e 1 ("ranging"), para que fosse possível montar uma matriz de correlação. Esse processo foi necessário porque as variáveis possuíam ordens de grandeza e unidades de

medidas diferentes. Para este tratamento estatístico foi utilizado o software estatístico PAST 1.3 (Hammer *et al.* 2009).

Para responder a hipótese inicial desta dissertação, de que, em condições ambientais, o ozônio é a principal variável a afetar as taxas das trocas gasosas, foi verificado com qual eixo a concentração de ozônio apresentava maior correlação, sendo este, o eixo número 4. Assim, foi produzida outra análise de componentes principais, incluindo os componentes 1 e 4.

4. RESULTADOS

4.1 Caracterização das condições meteorológicas e da qualidade do ar

4.1.1 Condições meteorológicas

A Tabela 1 apresenta os dados de temperatura, umidade relativa, velocidade do vento e precipitação durante o período de estudo. As menores médias mensais de temperatura mínima, média e máxima ocorreram em outubro de 2018 (16,9°C, 19,9°C e 24,3°C, respectivamente), já as maiores foram obtidas em janeiro de 2019 (20,2°C, 24,6°C e 30,9°C). A temperatura média diária durante o período do experimento, variou entre 16,2°C e 27,2°C. O mês de janeiro foi o mais quente, com média mensal de 24,6°C, e o mês de outubro foi o mais frio (19,9°C). Na figura 6 é possível observar a variação diária da temperatura durante o experimento.

Tabela 1: Médias, máximas e mínimas mensais de temperatura do ar, umidade relativa do ar, velocidade do vento e volume acumulado de precipitação pluviométrica registrados na estação meteorológica do Laboratório de Climatologia e Biogeografia do departamento de Geografia da USP, durante o período de setembro/2018 a março/2019.

		Setembro	Outubro	Novembro	Dezembro	Janeiro	Fevereiro	Março
Temperatura do ar (°C)	Média das mínimas	17,3	16,9	17,4	18,3	20,2	18,9	19,1
	Média das médias	21,4	19,9	20,8	22,9	24,6	22,7	22,4
	Média das máximas	27,7	24,3	25,7	28,7	30,9	27,6	27,3
Umidade relativa do ar (%)	Média das mínimas	46	63	56	46	44	57	58
	Média das médias	76	82	78	73	76	80	82
	Média das máximas	93	94	93	93	96	96	96
Velocidade do vento (m/s)	Média das médias	1,9	2,1	2,4	2,0	1,8	1,8	1,8
	Média das máximas	3,6	3,6	4,7	3,6	3,8	3,6	3,5
Precipitação (mm)	Volume acumulado	53*	88	144	101	251	418	230

*Dados coletados a partir do dia 19/09/2018

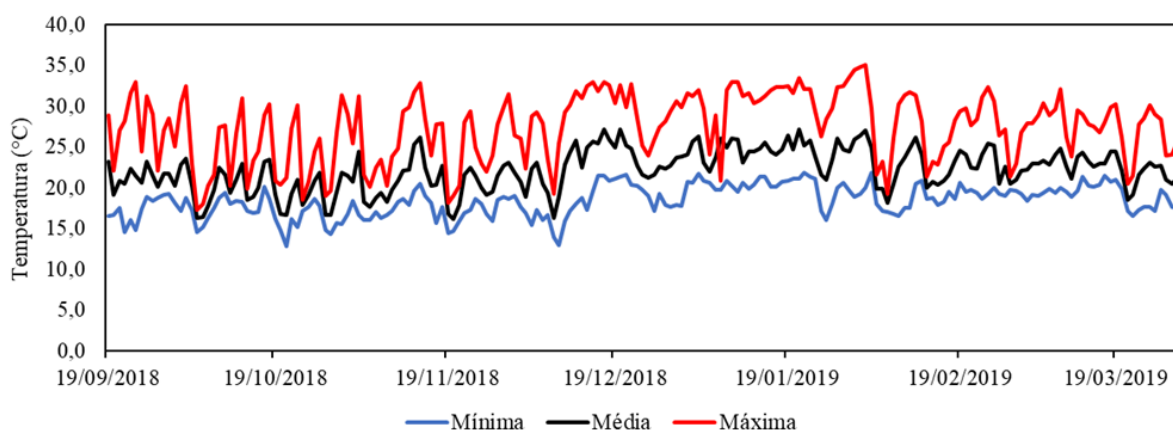


Figura 6: Mínimas, médias e máximas diárias da temperatura do ar registradas na estação meteorológica do Laboratório de Climatologia e Biogeografia do Departamento de Geografia da USP, durante o período de setembro/2018 a março/2019.

Em relação à umidade relativa, em janeiro foi registrada a menor média mensal das mínimas (44%), no mês de dezembro a menor média mensal das médias (73%) e nos meses setembro, novembro e dezembro foram observados os menores valores da média das máximas (93%) (Tabela 1). As médias diárias de umidade relativa do ar variaram de 52% a 96% (Figura 7). O mês de dezembro foi o mais seco (73%), já os meses mais úmidos foram outubro e março (82%).

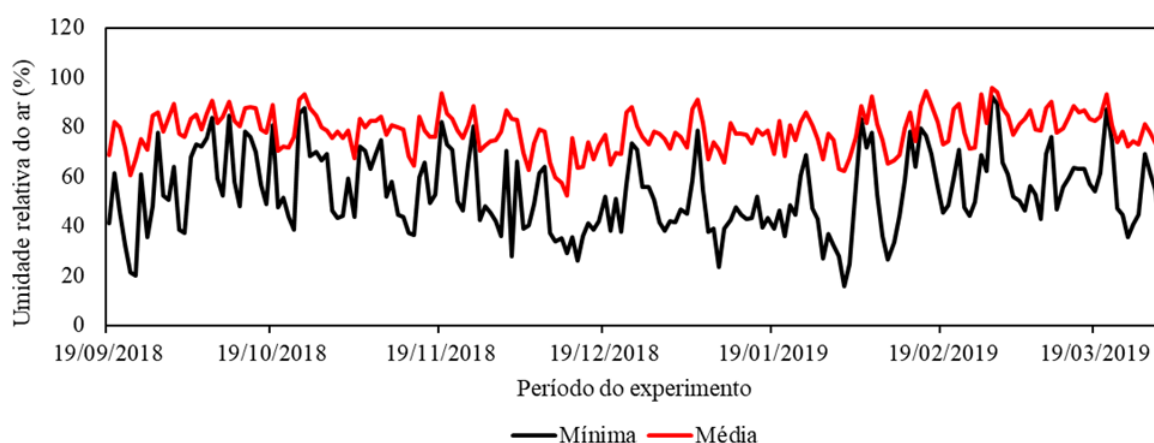


Figura 7: Mínimas e médias diárias da umidade relativa do ar (%) registradas na estação meteorológica do Laboratório de Climatologia e Biogeografia do Departamento de Geografia da USP, durante o período de setembro/2018 a março/2019.

A velocidade média mensal dos ventos durante o experimento foi de 2 m/s. O mês de novembro apresentou a maior média das médias (2,4 m/s), em relação aos outros meses de

realização do experimento (Tabela 1). O mês de novembro apresentou a maior média das máximas (4,7 m/s). As médias diárias da velocidade do vento variaram entre 0,7 e 4,2 m/s (Figura 8). Em novembro foi observada a máxima mais alta (8,5 m/s).

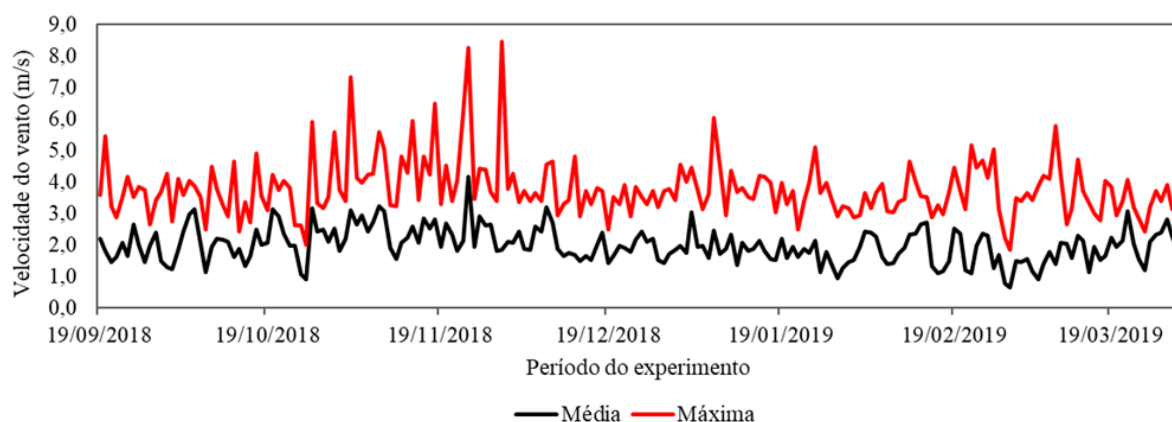


Figura 8: Mínimas e médias diárias da velocidade do vento (m/s) registradas na estação meteorológica do Laboratório de Climatologia e Biogeografia do Departamento de Geografia da USP, durante o período de estudo setembro/2018 a março/2019.

A precipitação pluviométrica acumulada durante o período do experimento foi de 1284 mm. O mês de fevereiro, apresentou maior precipitação (418 mm), já o mês que menos choveu foi outubro (53 mm). O mês de setembro não foi considerado porque os dados apresentados na Tabela 1 foram coletados a partir do dia 19/09/2018, quando a exposição das plantas foi iniciada. O volume diário de precipitação variou entre 0 e 68mm (Figura 9).

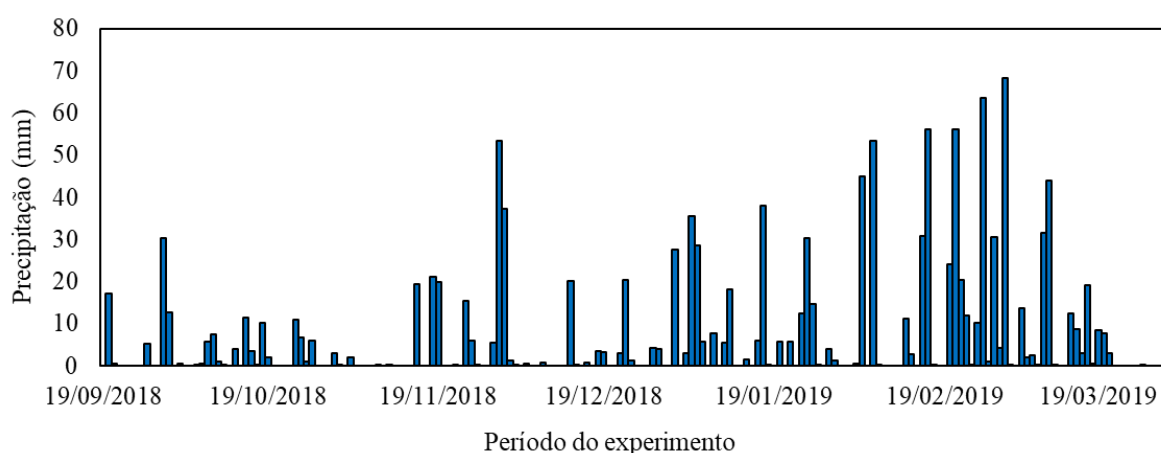


Figura 9: Volume acumulado diário de precipitação (mm) registrado na estação meteorológica do Laboratório de Climatologia e Biogeografia do Departamento de Geografia da USP, durante o período de estudo setembro/2018 a março/2019.

O déficit de pressão de vapor, radiação fotossinteticamente ativa e umidade relativa do solo foram medidos apenas nos dias de coleta de dados.

Os valores de déficit de pressão de vapor, apresentaram tendência de aumento a partir do período do meio-dia (11 às 12h) na maioria dos dias amostrais em ambas as estações (primavera e verão). Os maiores valores nos períodos da manhã, meio-dia e tarde, foram, respectivamente: 2,92 kPa, 3,97 kPa e 4,74 kPa (Figura 10).

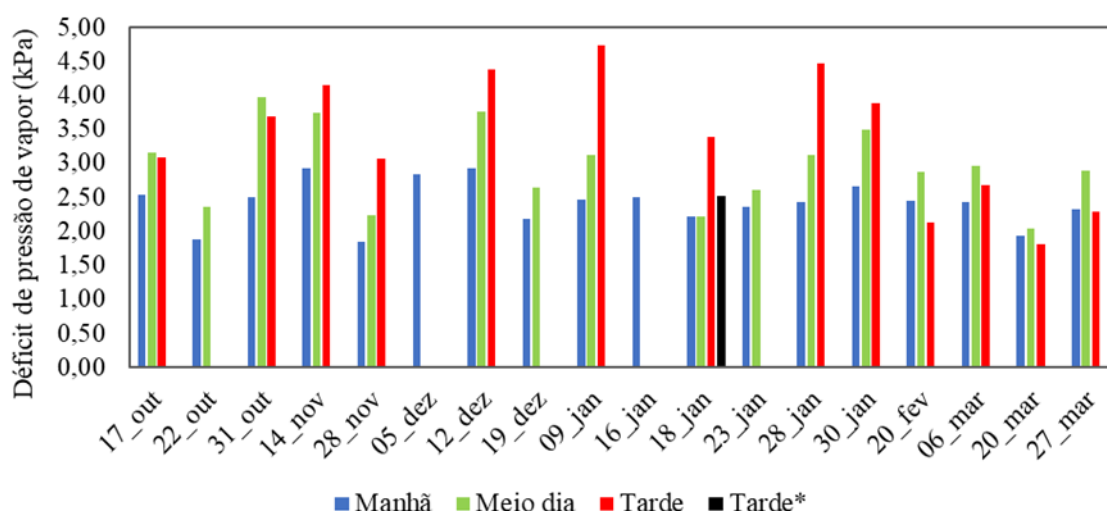


Figura 10: Médias horárias do déficit de pressão de vapor (kPa), registradas nos dias de medidas, nos períodos: Manhã: 9h às 10h, Meio-dia: 11h às 12h, Tarde: 14h às 15h e Tarde*: 16h, no Fitotério do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, durante o período de outubro/2018 a março/2019.

Os valores de RFA ao longo do período de estudo foram altos, chegando frequentemente a quase $2.000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. A RFA foi mais baixa na primavera do que no verão durante o período da manhã, considerando-se os dias em que foram realizadas as medidas (Figura 11). No período da tarde a RFA foi, em geral, mais alta do que na manhã, já no período do meio-dia, muitas vezes, a RFA foi semelhante à medida a tarde. Nos últimos dias amostrais (verão), os valores de RFA à tarde foram baixos, devido a formação de nuvens e posterior precipitação, que são comuns nesse período do ano.

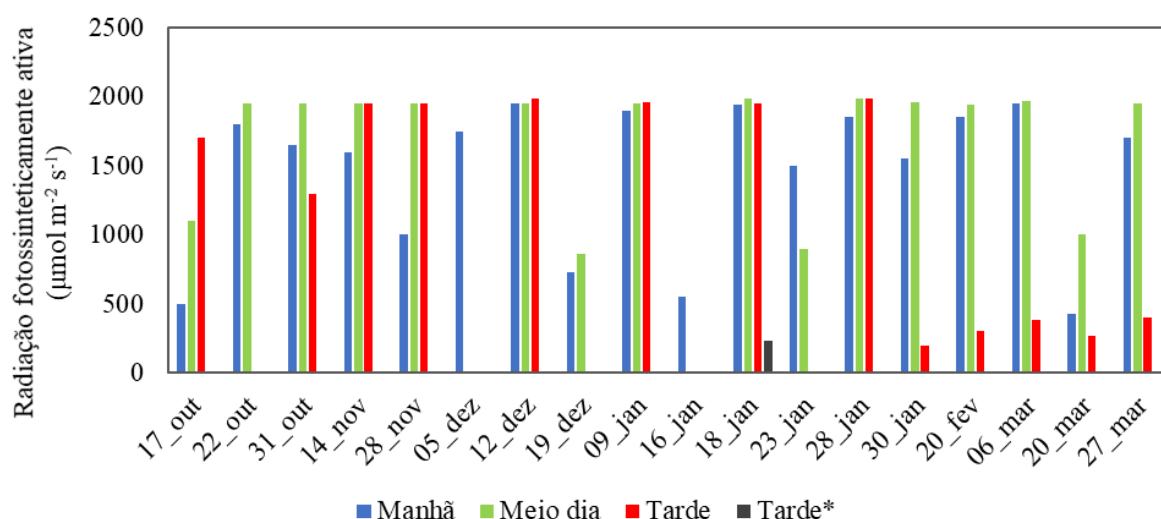


Figura 11: Valores da radiação fotossinteticamente ativa ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) registradas nos dias de medidas, nos períodos: Manhã: 9h às 10h, Meio-dia: 11h às 12h, Tarde: 14h às 15h e Tarde*: 16h, no Fitotério do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, durante o período de outubro/2018 a março/2019.

Na maioria dos dias de medições, foi possível observar uma redução da umidade relativa do solo ao longo do dia (Figura 12). A umidade relativa do solo mínima alcançada, em cada período foi: manhã (32%), meio-dia (30%) e tarde (30%). Já a umidade máxima alcançada em cada período, foi: manhã (72%), meio-dia (70%) e tarde (71%).

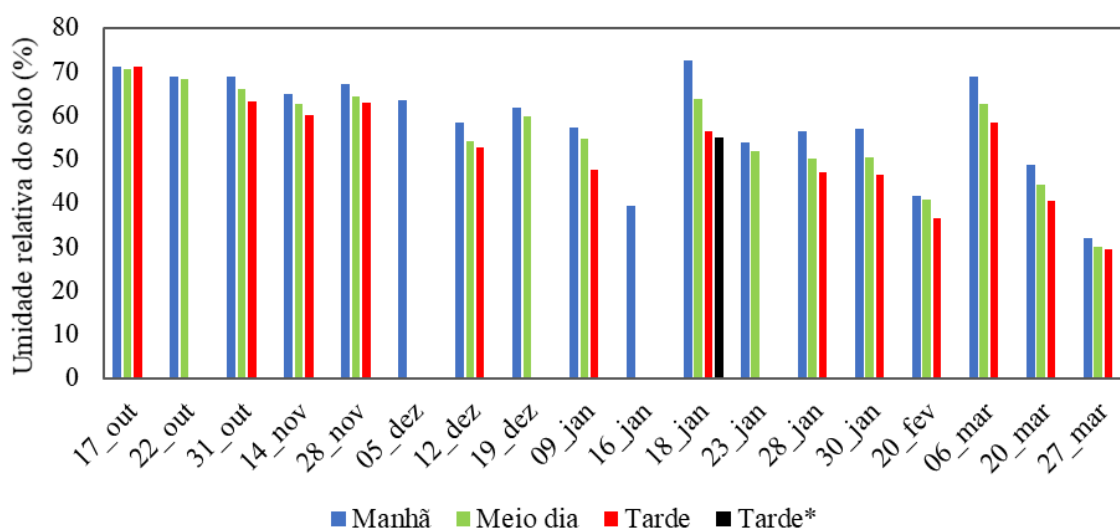


Figura 12: Valores da umidade relativa do solo (%) dos vasos com os indivíduos de *A. graveolens*, nos dias de medidas, nos períodos: Manhã: 9h às 10h, Meio-dia: 11h às 12h, Tarde: 14h às 15h e Tarde*: 16h, durante o período de outubro/2018 a março/2019.

4.2 Qualidade do ar

4.2.1 Concentração de ozônio

A média mensal mais alta de concentração de ozônio foi medida em janeiro (51 ppb), mês que também apresentou a maior máxima (143 ppb). O mês que apresentou a maior exposição acumulada acima de 40 ppb (EAO40) também foi janeiro (3290 ppb) (Tabela 2).

Tabela 2: Médias e máximas mensais de 8 h (das 12h às 19h) da concentração de ozônio (ppb), e exposição acumulada de O₃ acima de 40 ppb h (das 6h às 19h), registradas no local de estudo, na cidade de São Paulo, durante o período de estudo.

		Setembro	Outubro	Novembro	Dezembro	Janeiro	Fevereiro	Março
Ozônio	Média	36	30	34	47	51	37	33
	Máxima	87	99	80	109	143	109	82
	EAO40	1207	785	899	3092	3290	1679	847

As concentrações médias diárias de O₃ variaram entre 7 e 94 ppb (Figura 13). Em janeiro ocorreu a maior média diária e a maior máxima horária 143 ppb. Na figura 13 pode-se observar a variação da concentração do poluente.

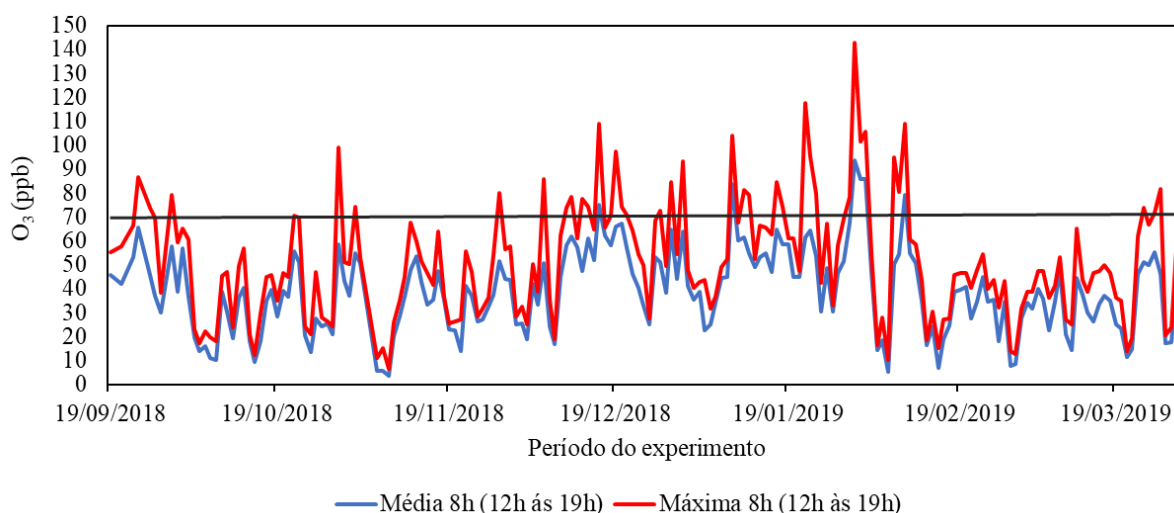


Figura 13: Médias e máximas diárias da concentração de ozônio (ppb) pelo período de 8 h (das 12h às 19h), (----) padrão estadual de qualidade do ar (71 ppb) registradas na estação “Cidade Universitária USP-IPEN” da CETESB, na cidade de São Paulo, durante o período de estudo.

Na figura 14 pode-se observar a variação da EAO40 acumulada diariamente até o final do experimento.

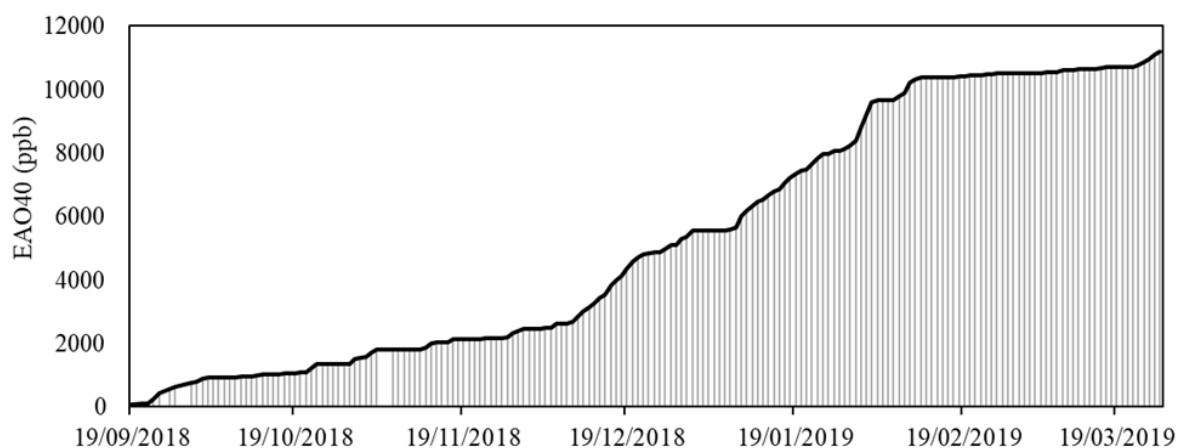


Figura 14: EAO40 diária no período das 6h às 19h registradas na estação “Cidade Universitária USP-IPEN” da CETESB, na cidade de São Paulo, durante o período de estudo.

4.2.2 Material particulado

As médias diárias da concentração de material particulado (partículas inaláveis finas < 2,5 μm) variaram entre 5 a 28 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (Figura 15). Durante o período do experimento, o padrão de qualidade do ar foi ultrapassado em apenas um dia (62 $\mu\text{g}/\text{m}^3$), no mês de dezembro. Em relação ao material particulado, o mês de setembro apresentou a maior média (19 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) e, a maior máxima (42 $\mu\text{g}/\text{m}^3$), durante o período da realização do experimento.

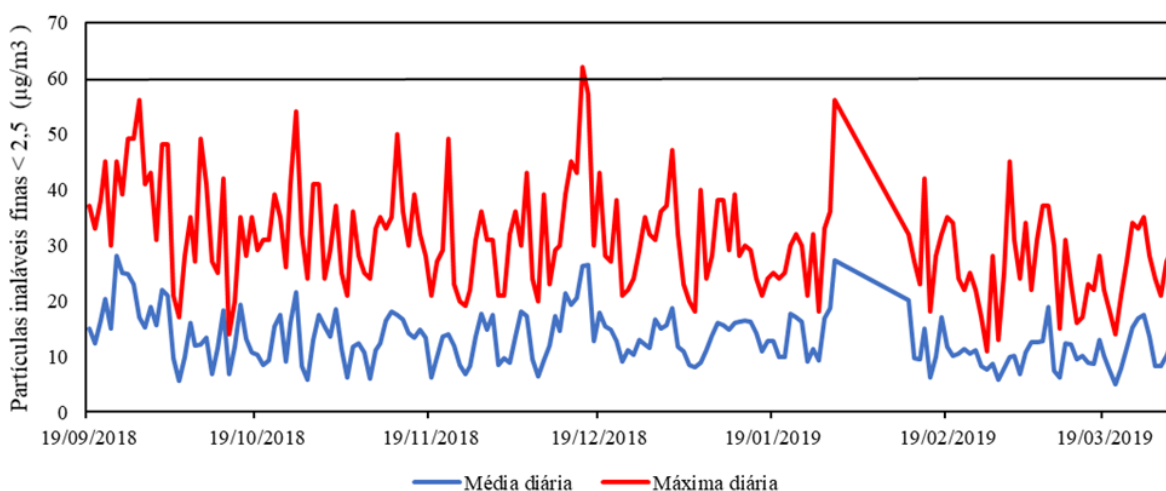


Figura 15: Médias e máximas diárias (24h) da concentração de material particulado ($\mu\text{g}/\text{m}^3$), (----) padrão estadual de qualidade do ar (60 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) registradas na estação “Cidade Universitária USP-IPEN” da CETESB, na cidade de São Paulo, durante o período de estudo.

4.3 Sintomas foliares visíveis

Durante todo o período de experimento não foram observados sintomas foliares visíveis semelhantes aos induzidos pelo ozônio nos indivíduos de *A. graveolens*.

4.4 Trocas gasosas

4.4.1 Assimilação líquida de carbono

4.4.1.1 Comparação entre dias

As taxas médias de assimilação líquida de carbono que foram registradas no período da manhã, variaram entre 2 e 12 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$. No período do meio-dia, variaram entre 2 e 11 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ e no período da tarde, entre 1,5 e 6 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Anexo I). O valor máximo de assimilação registrado foi 15 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ no período da manhã e, durante a tarde foi de 8 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Anexo I).

De modo geral, as taxas da assimilação não apresentaram grande variação entre os dias de medidas em cada período (manhã, meio-dia e tarde), exceto nos primeiros dias, apresentando taxas baixas. Nos primeiros dias de medidas (outubro e novembro), foram registradas as taxas mais baixas em todos os períodos (Figura 16).

A estatística descritiva de todos os resultados de trocas gasosas consta do anexo I.

4.4.1.2 Comparação entre horários

Entre os 16 dias em que houve medições no mínimo em dois períodos, 10 dias não apresentaram diferenças significativas entre os períodos. Apenas em um dia (28/11/2018), a assimilação no período da manhã foi diferente da assimilação ao meio-dia e, a mesma, foi diferente do período da tarde. Os outros 5 dias, apresentaram diferenças entre as taxas de assimilação nos períodos da manhã e da tarde (Figura 17).

A seguir são apresentados os dias que indivíduos de *A. graveolens* obtiveram taxas de assimilação líquida de carbono com diferenças significativas entre os períodos de medida.

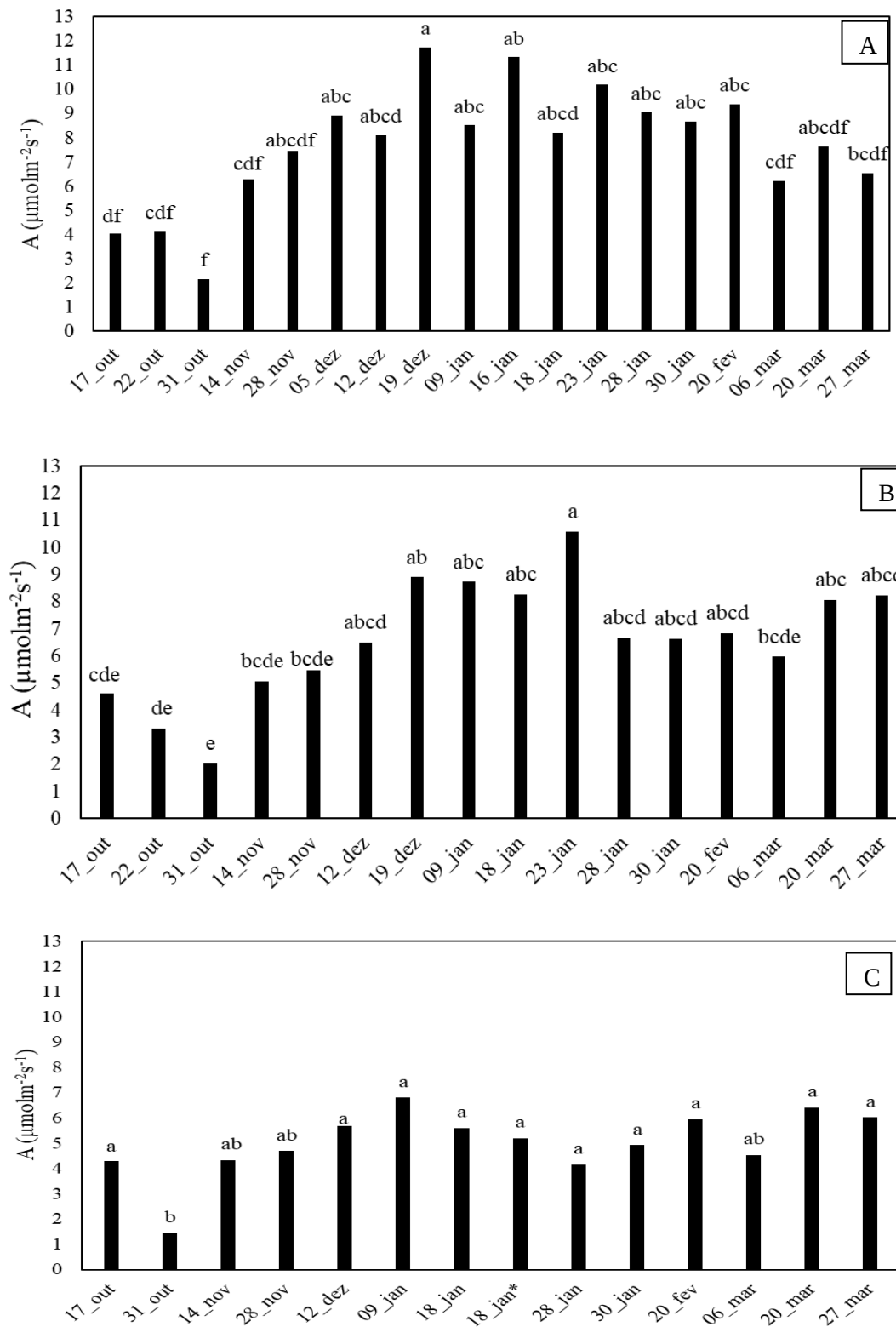


Figura 16: Mediana da assimilação líquida de carbono ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) observada em indivíduos de *Astronium graveolens* no Fitotério do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, durante o período de estudo outubro/2018 a março/2019. A: período da manhã (9h às 10h), B: período do meio-dia (11h às 12h) e C: período da tarde (14h às 15h). Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ($P < 0,05$) ($n = 10$). *Medida realizada às 16h.

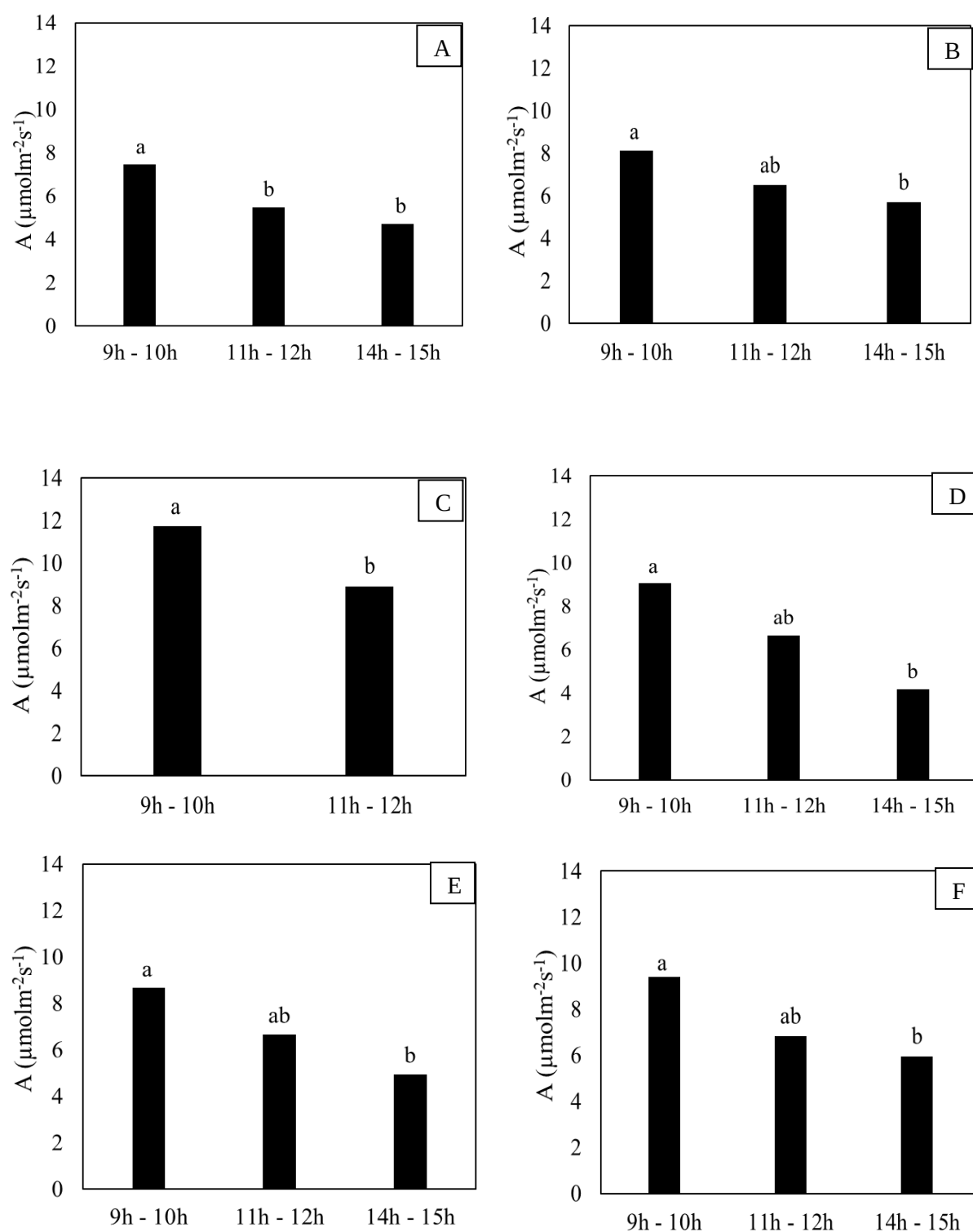


Figura 17: Mediana da assimilação líquida de carbono ($\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$) observada em indivíduos de *Astronium graveolens* no Fitotério do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, durante o período de estudo outubro/2018 a março/2019. A: 28/11/2018, B: 12/12/2018, C: 19/12/2018, D: 28/01/2019, E: 30/01/2019 e F: 20/02/2019. Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ($P < 0,05$) ($n = 10$).

4.4.2 Condutância estomática

4.4.2.1 Comparação entre dias

As taxas médias de condutância estomática registradas no período da manhã, variaram entre 0,02 a 0,14 molm⁻²s⁻¹. No período do meio-dia, variaram entre 0,01 e 0,11 molm⁻²s⁻¹. Durante a tarde, as taxas variaram entre 0,01 e 0,14 molm⁻²s⁻¹ (Anexo I). O valor máximo de condutância registrado no período da manhã, foi 0,22 molm⁻²s⁻¹, e durante a tarde: 0,21 molm⁻²s⁻¹(Anexo I).

As taxas de condutância não variaram muito em cada período, exceto em alguns dias em que foram registrados valores extremos, muito alto (19/12/2018 e 20/03/2019) ou muito baixo (outubro e novembro).

As taxas mais baixas no período da manhã e meio-dia foram registradas nos meses de outubro e novembro, no período da tarde. As menores taxas ocorreram nos meses de outubro, novembro e janeiro (Figura 18).

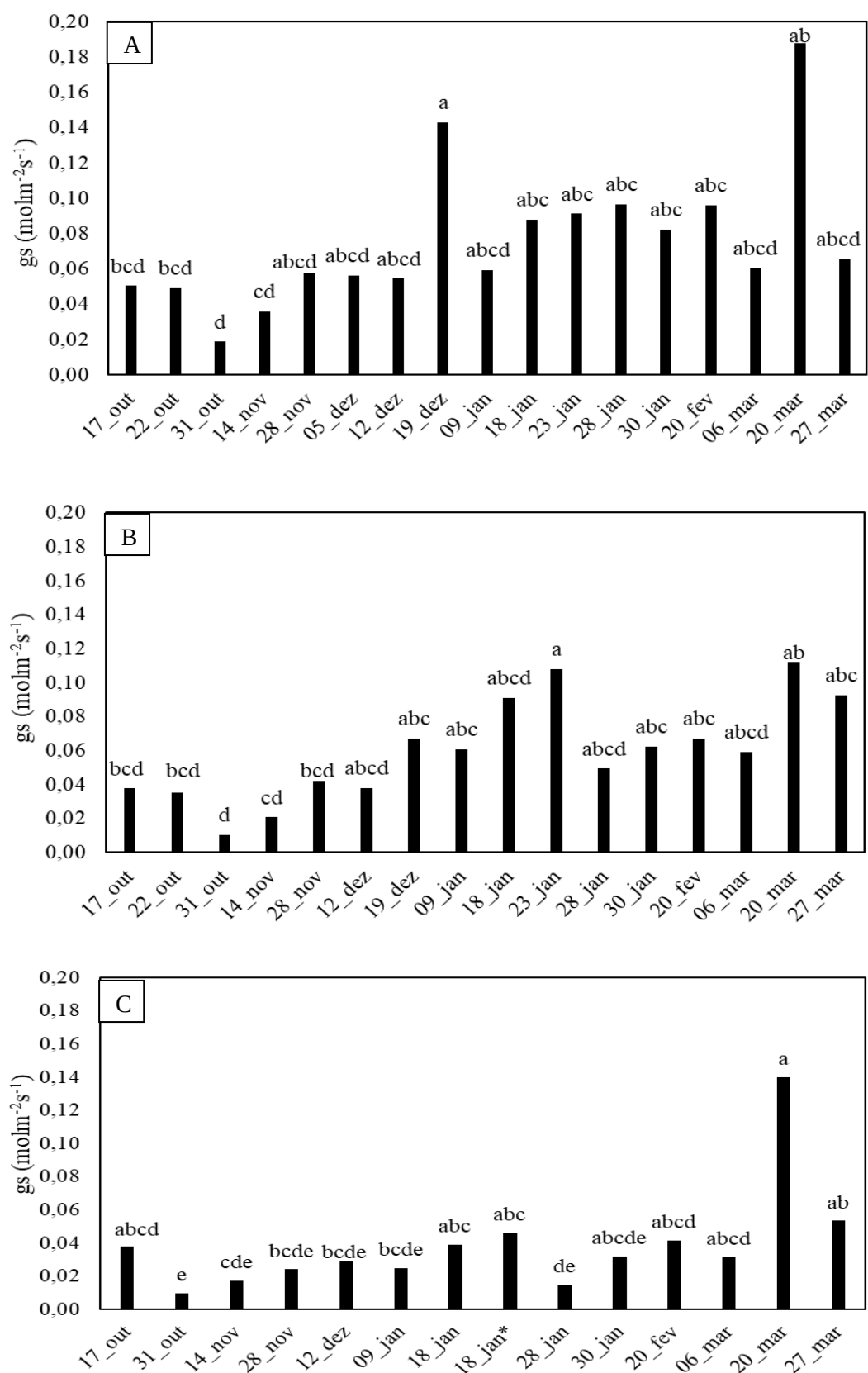


Figura 18: Mediana da condutância estomática (molm⁻²s⁻¹) em indivíduos de *Astronium graveolens* expostos no Fitotério do Instituto de Biociências da USP, São Paulo, de outubro/2018 a março/2019. A: período da manhã (9h às 10h), B: período do meio-dia (11h às 12h) e C: período da tarde (14h às 15h). Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ($P < 0,05$) ($n = 10$). *Medida realizada às 16h.

4.4.2.2 Comparação entre horários

Em 9 dos 16 dias de medições não houve diferenças significativas entre os períodos nos resultados de gs. No dia 28/01/2019 as taxas de condutância dos períodos da manhã e meio dia foram semelhantes e ambas diferiram das medidas no período da tarde. O restante dos 6 dias, as taxas apresentaram diferenças significativas entre os períodos da manhã e tarde (Figura 19).

A seguir são apresentados os dias que indivíduos de *A. graveolens* obtiveram taxas de condutância estomática com diferenças significativas entre os períodos de medida.

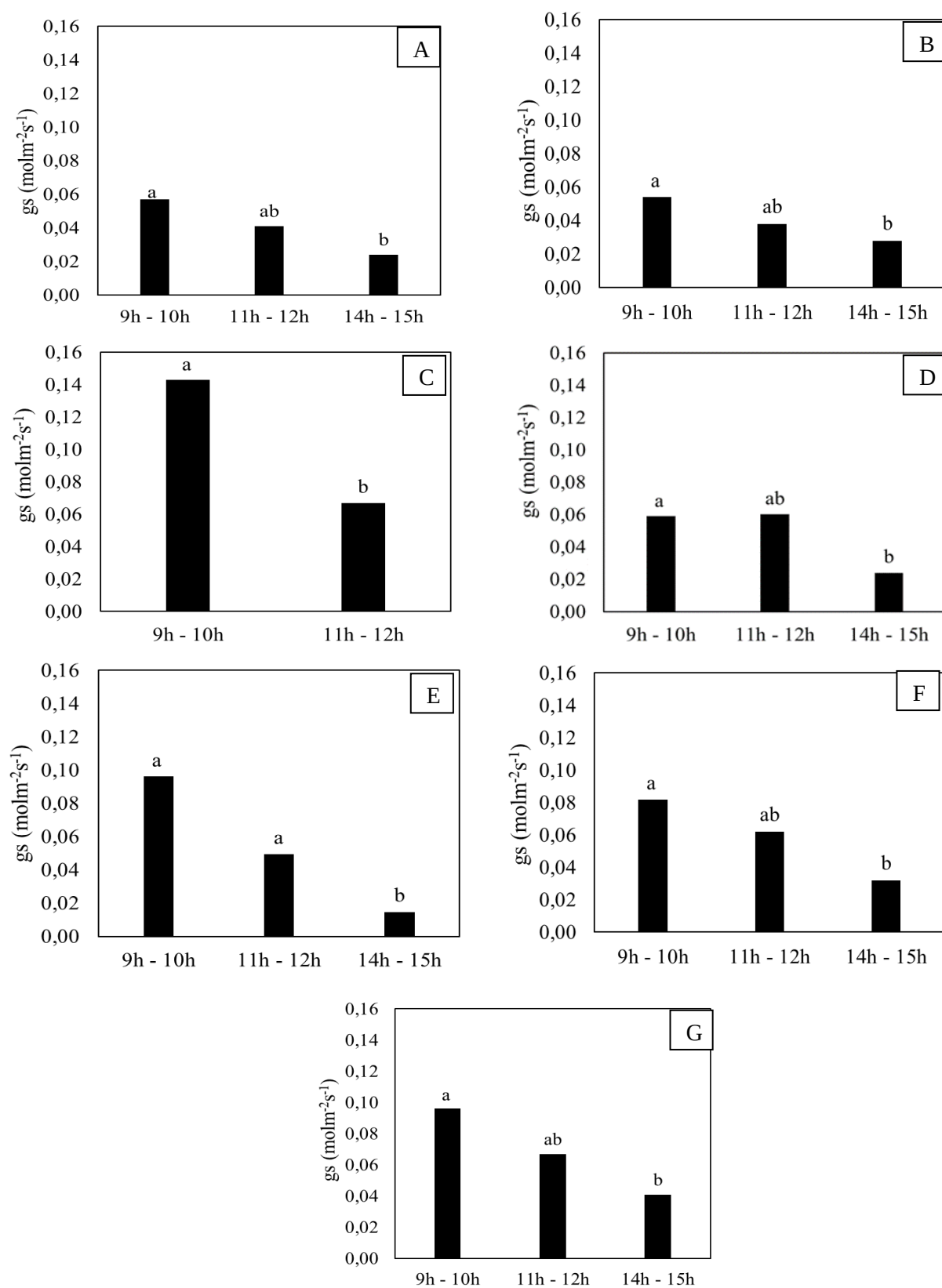


Figura 19: Mediana da condutância estomática ($\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$) em indivíduos de *Astronium graveolens* expostos no Fitotério do Instituto de Biociências da USP, São Paulo, de outubro/2018 a março/2019. A: 28/11/2018, B: 12/12/2018, C: 19/12/2018, D: 09/01/2019, E: 28/01/2019, F: 30/01/2019 e G: 20/02/2019. Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ($P < 0,05$) ($n = 10$).

4.4.3 Transpiração

4.4.3.1 Comparação entre dias

As taxas médias de transpiração registradas no período da manhã variaram entre 0,5 e 3,6 $\text{mmolm}^{-2}\text{s}^{-1}$. No período do meio-dia, variaram entre 0,4 e 3,0 $\text{mmolm}^{-2}\text{s}^{-1}$. E, durante a tarde, as taxas variaram entre 0,4 e 2,5 $\text{mmolm}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Anexo I). A taxa máxima de transpiração obtida pelas plantas no período da manhã e tarde, foram, respectivamente: 6,4 $\text{mmolm}^{-2}\text{s}^{-1}$ e 3,7 $\text{mmolm}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Anexo I). Em todos os períodos, os menores valores foram observados nos primeiros meses do experimento (outubro e novembro) (Figura 20).

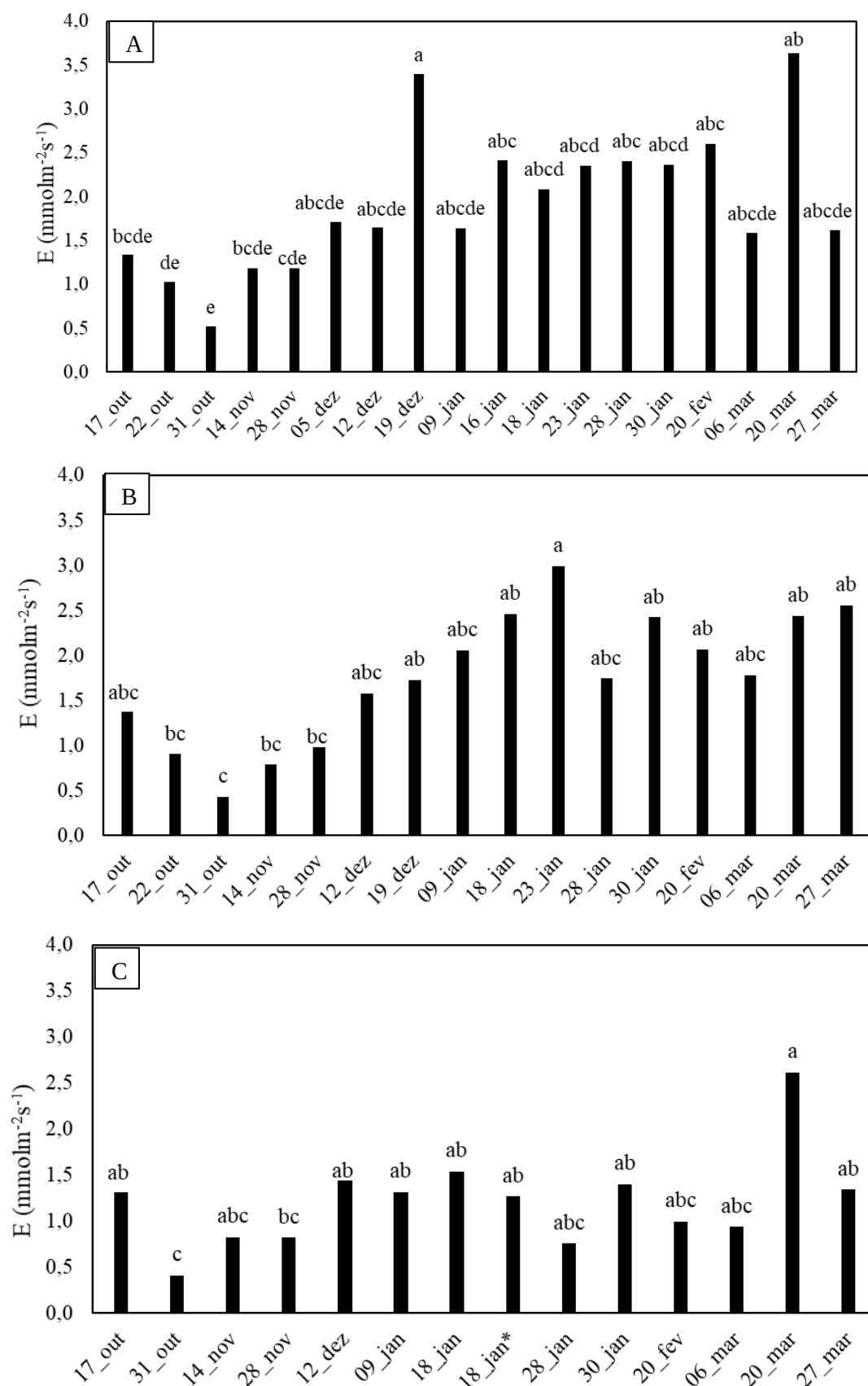


Figura 20: Mediana da transpiração ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) em indivíduos de *Astronium graveolens* expostos no Fitotério do Instituto de Biociências da USP, São Paulo, de outubro/2018 a março/2019. A: período da manhã (9h às 10h), B: período do meio-dia (11h às 12h) e C: período da tarde (14h às 15h). Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ($P < 0,05$) ($n = 10$).

4.4.3.2 Comparação entre horários

Entre os 16 dias de medidas de transpiração, 13 dias não apresentaram diferenças significativas entre os períodos. Apenas no dia 20/02/2019, as taxas do período da manhã, apresentaram diferença entre o período da tarde e, as taxas do período do meio-dia, apresentaram diferença entre o período da tarde. O restante das medidas de transpiração, apresentaram diferenças entre os períodos da manhã e tarde (Figura 21).

A seguir são apresentados os dias que indivíduos de *A. graveolens* obtiveram taxas de transpiração com diferenças significativas entre os horários de medida.

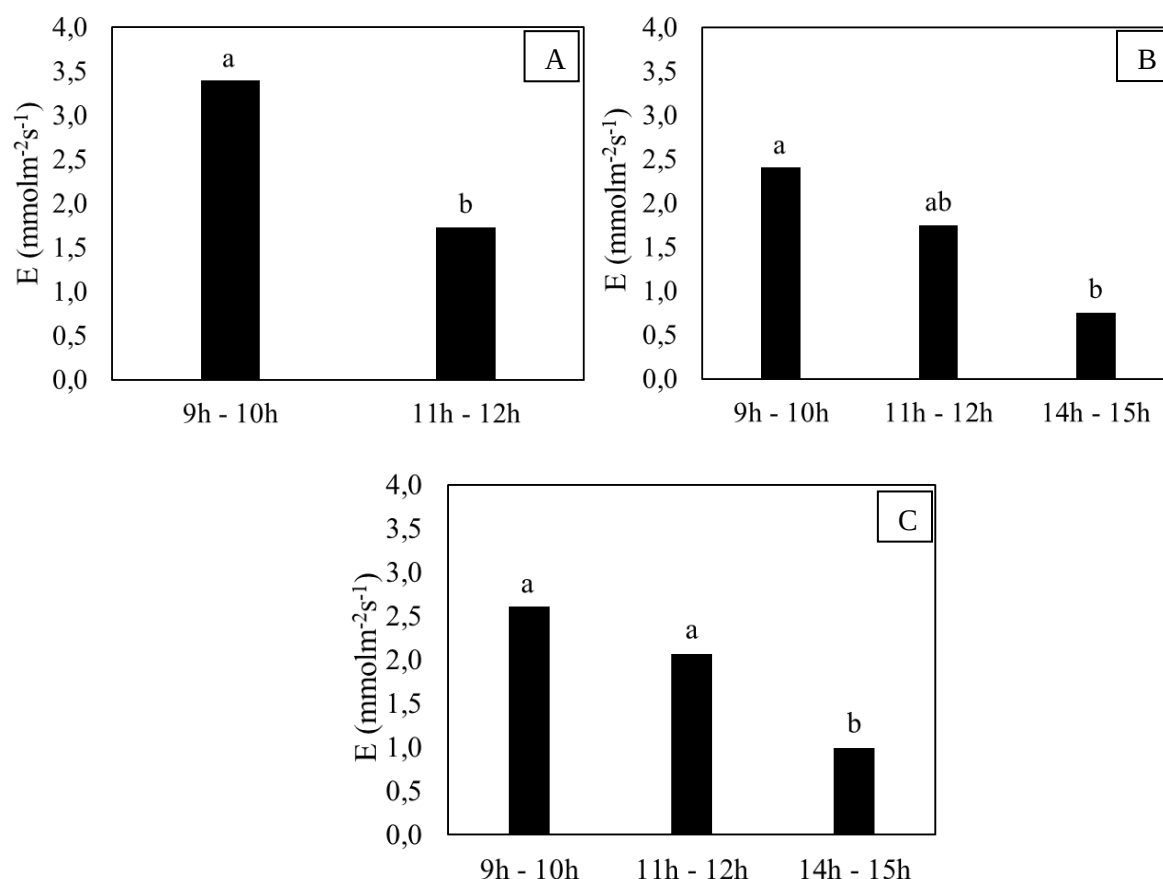


Figura 21: Mediana da transpiração ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) em indivíduos de *Astronium graveolens* expostos no Fitotério do Instituto de Biociências da USP, São Paulo, de outubro/2018 a março/2019. A: 19/12/2018, B: 28/01/2019 e C: 20/02/2019. Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ($P < 0,05$) ($n = 10$).

Foram observados 6 dias com diferenças significativas entre os períodos em que foram realizadas as medidas das taxas de assimilação líquida de carbono e, 7 dias com diferenças significativas nas taxas de condutância estomática. Em relação a transpiração, apenas 3 dias apresentaram diferenças significativas. Contudo, pode-se observar que a assimilação e a condutância estomática, variaram mais que a transpiração ao longo do dia, as plantas apresentaram taxas mais altas no período da manhã e mais baixas durante a tarde.

4.5 Análise de componentes principais (ACP)

A análise sintetizou 64% da variabilidade total dos dados em seus dois primeiros eixos de ordenação. As variáveis que apresentaram maior correlação com o eixo 1 foram: condutância estomática ($r = 0,45$), déficit de pressão de vapor ($r = -0,39$), transpiração ($r = 0,39$), umidade relativa do ar ($r = 0,37$), assimilação líquida de carbono ($r = 0,36$), velocidade do vento ($r = -0,27$) e radiação fotossinteticamente ativa ($r = -0,18$). Em relação ao eixo 2, foram associadas as seguintes variáveis: Umidade relativa do solo ($r = 0,47$), concentração de ozônio ($r = -0,43$) e a temperatura do ar ($r = -0,39$) (Tabela 3).

Tabela 3: Relação das variáveis com os componentes principais 1 e 2 e porcentagem de variabilidade explicada pelos eixos (%).

Variáveis	Abreviatura	Componentes principais	
		1	2
Assimilação líquida de CO ₂	A	0,36	-0,33
Condutância estomática	gs	0,45	-0,15
Transpiração	E	0,39	-0,32
Déficit de pressão de vapor	DPV	-0,39	-0,29
Radiação fotossinteticamente ativa	RFA	-0,18	-0,05
Umidade relativa do solo	URs	-0,10	0,47
Temperatura do ar	T	-0,33	-0,39
Umidade relativa do ar	URar	0,37	0,36
Velocidade do vento	VV	-0,27	-0,02
EAO40	EAO40	0,08	-0,43
Variância explicada		42%	22%

No eixo 1 foi possível observar a polarização entre as trocas gasosas (A, gs e E) e o déficit de pressão de vapor, a radiação fotossinteticamente ativa e a velocidade do vento. Em relação ao eixo 2, a umidade relativa do ar mostrou-se oposta à temperatura, apresentando uma relação inversamente proporcional. O mesmo ocorreu entre umidade do solo e concentração acumulada de O₃ (Figura 22).

As variáveis meteorológicas que afetaram as trocas gasosas da planta de forma mais intensa, foram: em primeiro lugar, o déficit de pressão de vapor e a temperatura do ar (0,39), a velocidade do vento (0,27) e a radiação fotossinteticamente ativa (0,18).

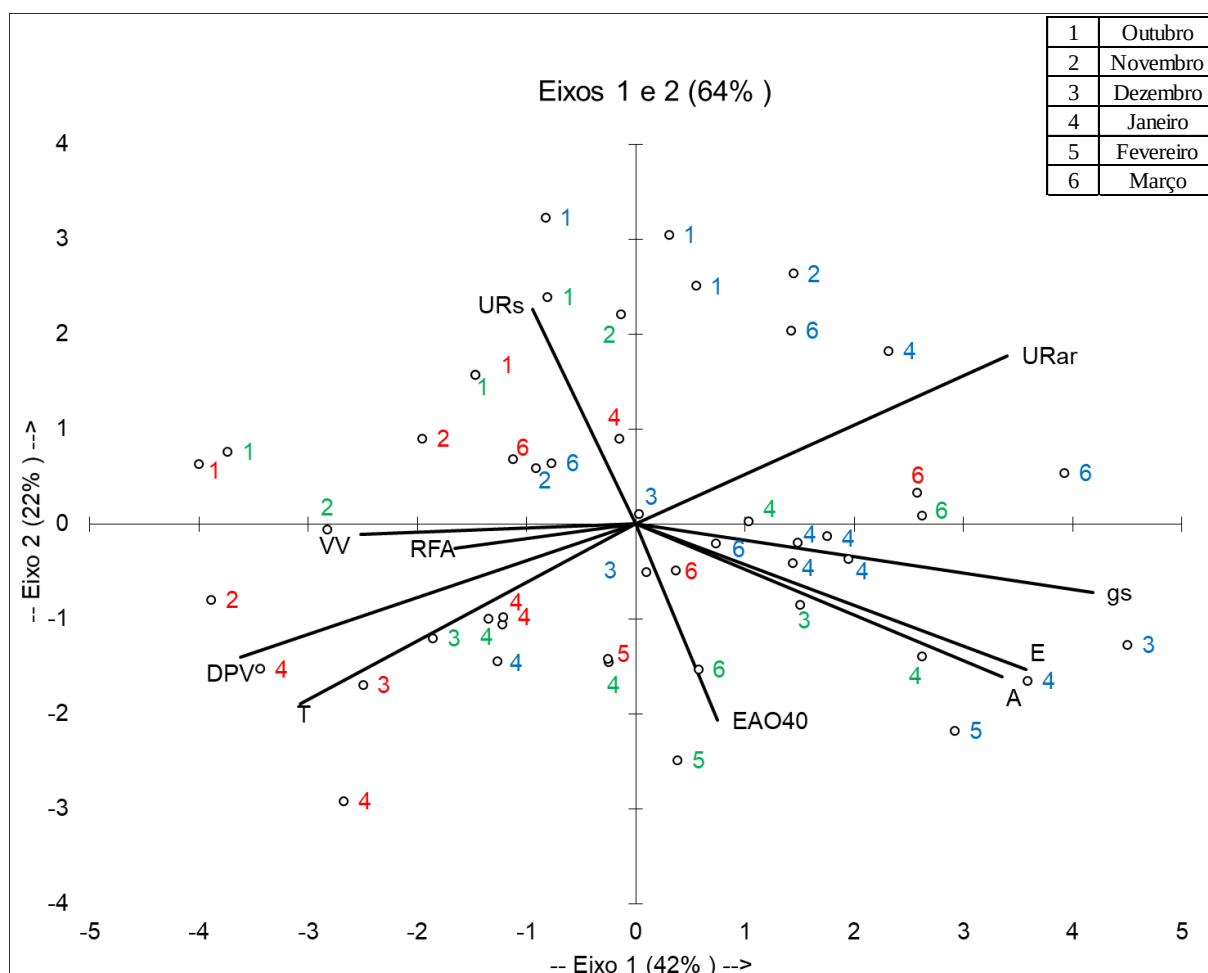


Figura 22: Ordenação das unidades amostrais pelo método de Análise de Componentes Principais. Abreviatura das variáveis: A: assimilação líquida de CO_2 , gs: condutância estomática; E: transpiração, RFA: radiação fotossinteticamente ativa, DPV: déficit de pressão de vapor do ar, T: temperatura do ar; URar: umidade relativa do ar, URs: umidade relativa do solo, VV: velocidade do vento, EAO40: concentração acumulada de O_3 . Unidades amostrais: dias de medições das trocas gasosas, representadas pelo mês (legenda no lado superior direito do biplot), as cores representam os horários das medidas (manhã: azul, meio-dia: verde e tarde: vermelho).

Em relação aos horários, as medidas do primeiro horário (9h às 10h) posicionaram-se predominantemente em torno das altas taxas das trocas gasosas. Também foi possível observar que, houve uma redução nos valores das trocas gasosas no último horário (14h às 15h) que, ficaram associadas os altos valores de temperatura, déficit de pressão de vapor e radiação fotossinteticamente ativa.

A ACP que avaliou a importância do O_3 com relação às demais variáveis foi a que incluiu os eixos 1 e 4 (Tabela 4). Estes dois eixos de ordenação juntos, sintetizaram 51 % da

variabilidade total dos dados. Nesta ACP (Figura 23), a concentração do ozônio não apresentou correlação com nenhuma outra variável.

Em ambas as análises estatísticas multivariadas entre os componentes principais 1 e 2 e entre os componentes principais 1 e 4 a variável EAO40, ou seja, a concentração de ozônio não foi associada à redução das trocas gasosas nos indivíduos de *Astronium graveolens*.

Tabela 4: Relação das variáveis com os componentes principais 1 e 4 e porcentagem de variabilidade explicada pelos eixos (%).

Variáveis	Abreviatura	Componentes principais	
		1	4
Assimilação líquida de CO ₂	A	0,36	0,07
Condutância estomática	gs	0,45	-0,05
Transpiração	E	0,39	-0,15
Déficit de pressão de vapor	DPV	-0,39	-0,14
Radiação fotossinteticamente ativa	RFA	-0,18	0,47
Umidade relativa do solo	URs	-0,10	0,10
Temperatura do ar	T	-0,33	-0,29
Umidade relativa do ar	URar	0,37	0,20
Velocidade do vento	VV	-0,27	0,46
EAO40	EAO40	0,08	0,63
Variância explicada		42%	9%

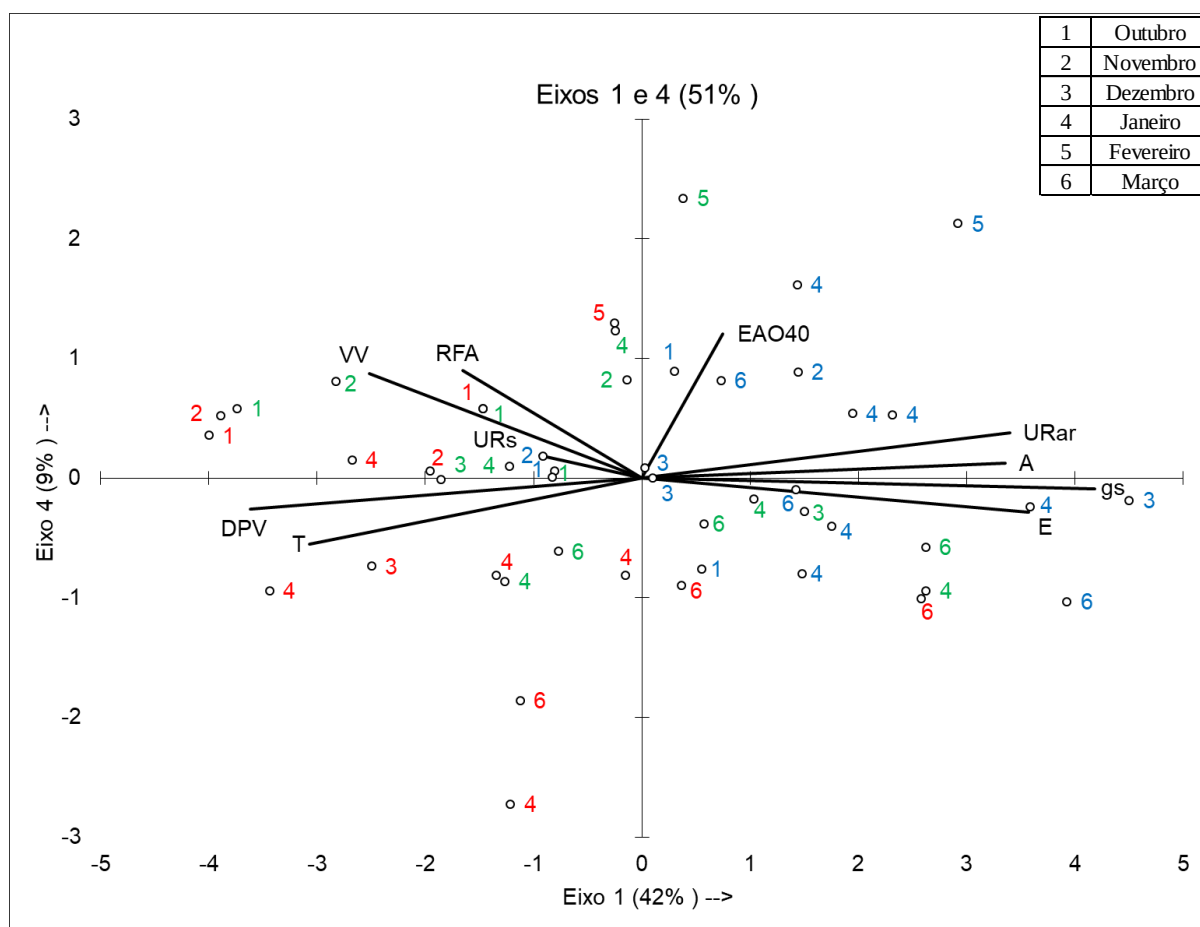


Figura 23: Ordenação das unidades amostrais pelo método de Análise de Componentes Principais. Abreviatura das variáveis: A: assimilação líquida de CO_2 , gs: condutância estomática; E: transpiração, RFA: radiação fotossinteticamente ativa, DPV: déficit de pressão de vapor do ar, T: temperatura do ar; URar: umidade relativa do ar, URS: umidade relativa do solo, VV: velocidade do vento, EAO40: concentração acumulada de O_3 . Unidades amostrais: dias de medições das trocas gasosas, representadas pelo mês (legenda no lado superior direito do biplot), as cores representam os horários das medidas (manhã: azul, meio-dia: verde e tarde: vermelho).

5. DISCUSSÃO

5.1 Condições meteorológicas e formação de ozônio

Durante o período do experimento, foram observadas temperaturas do ar baixas (mínima, média e máxima) nos meses de outubro e novembro. Nestes meses, as médias mensais das temperaturas máximas, foram inferiores à média histórica em praticamente todo o estado de São Paulo. Em dezembro, as médias mensais das máximas de temperatura do ar ficaram acima ou próximas da média histórica em praticamente todo o estado (CETESB 2019). Em janeiro, fevereiro e março, a temperatura média, a temperatura média máxima e a temperatura média mínima ficaram acima das respectivas médias históricas (IAG-USP 2019).

Os meses que apresentaram temperaturas acima das respectivas médias históricas, contribuíram de forma positiva na formação do ozônio. Temperaturas altas e alta incidência de radiação solar durante todo o ano são comuns em regiões tropicais, que favorecem a formação de ozônio (CETESB 2018). Nas regiões de clima temperado, altas concentrações de ozônio são observadas apenas no verão (Emberson *et al.* 2003, Castell-Balaguer *et al.* 2012). Já em climas tropicais, altas concentrações de ozônio podem ocorrer ao longo do ano.

No mês de setembro, a umidade relativa média ficou ligeiramente acima da média histórica, enquanto a umidade relativa média mínima ficou abaixo da média histórica. Em outubro e novembro, a umidade relativa média ficou acima de suas médias histórica. Em dezembro a umidade relativa média e a umidade relativa média mínima ficaram abaixo de suas médias históricas. No ano de 2019, em janeiro e fevereiro a umidade relativa média e a umidade relativa média mínima ficaram abaixo das médias históricas. Já no mês de março, a umidade relativa média e a umidade relativa média mínima foram praticamente iguais ao esperado (IAG/USP 2019).

Nos meses de setembro, outubro e novembro de 2018, a precipitação total mensal ficou acima da média histórica para cada mês, no entanto, a precipitação total mensal em dezembro, ficou muito abaixo da média histórica do mês. Nos meses de janeiro, fevereiro e março de 2019, os registros mostraram que a precipitação total mensal ficou acima da média histórica de cada mês. A precipitação abaixo da média histórica do mês, em dezembro, contribuiu para que fosse registrada a menor média mensal de umidade relativa do ar (CETESB 2018).

Contudo, a primavera de 2018 foi mais fria e chuvosa do que a média histórica para o período. Já o verão, pode ser caracterizado como mais quente e chuvoso do que a média. As chuvas que ocorreram em dezembro aconteceram de forma isolada, devido à convecção pelo aquecimento, mas essas chuvas não impediram a ocorrência de elevadas concentrações de ozônio neste mês, pois os episódios das elevadas concentrações de ozônio aconteceram antes das chuvas (CETESB 2018).

Concentrações altas de O₃ já foram registradas mesmo durante meses chuvosos, podendo ser atribuídas à ocorrência de condições climáticas favoráveis à formação de O₃, como dias longos e quentes, alta incidência de radiação solar e presença de seus precursores na atmosfera (Boian & Andrade 2012). Isto pode ser observado durante o período do experimento, pois mesmo com a maioria dos meses apresentando precipitações totais acima do esperado, como as chuvas ocorrem geralmente no fim da tarde, elas não impediram a formação de elevadas concentrações de ozônio.

5.2 Concentração de ozônio

Segundo a CETESB (2018), na RMSP o padrão estadual de qualidade do ar em 8 horas (140 µg/m³ ou 70 ppb) para o O₃ foi ultrapassado em dezoito dias, sendo nove dias somente no mês de dezembro, as outras ultrapassagens não ocorreram durante a exposição das plantas.

Desde 2014 vem ocorrendo uma redução no número de dias com ultrapassagem do padrão estadual na RMSP (CETESB 2018). Na estação Cidade Universitária USP-IPEN, que fica ao lado do local onde as plantas foram expostas, o padrão estadual foi ultrapassado uma vez em dezembro, uma vez em janeiro e três vezes em fevereiro.

Mesmo com o crescimento da frota veicular, há uma queda nas emissões dos poluentes atmosféricos, inclusive, dos óxidos de nitrogênio, um poluente precursor na formação de O₃. A redução dos poluentes atmosféricos de modo geral, está ocorrendo, devido a renovação da frota com veículos que poluem menos que os mais antigos.

A EAO40 acumulada durante o período do experimento (seis meses) atingiu 11.799 ppb h excedendo o limite de 9.000 ppb h por seis meses, proposto pela CLRTAP (2017) para espécies florestais.

Em estudo realizado por Assis (2014) no mesmo local deste experimento, a maior EAO40 registrada, foi de 7.616 no período de 23/08 a 19/11/2012, ultrapassando o limite de 3.000 ppb acumulados por três meses CLRTAP (2017). Nesse período de maior EAO40, foi registrada a maior incidência de injúrias foliares e o maior número de folhas afetadas com sintomas induzidos pelo ozônio em indivíduos envasados de *Psidium guajava* 'Paluma'.

Moura *et al.* (2014), em estudo com indivíduos adultos de *A. graveolens* em condições de campo (Região Metropolitana de Campinas), registrou a EAO40 anual de 14.000 ppb h (2009 e 2011), sendo observadas injúrias foliares induzidas pelo ozônio neste período.

No mesmo sítio experimental do presente estudo, expondo indivíduos envasados de *A. graveolens*, Cassimiro (2015) observou valor de EAO40 de 10.000 ppb no período de 13/11/2013 a 14/02/2014. Embora o valor seja semelhante ao obtido neste estudo (11.799 ppb),

ele foi acumulado em apenas três meses. Portanto, comparando com as concentrações medidas em anos anteriores, a concentração de O₃ foi mais baixa do que o esperado, principalmente na primavera. Neste mesmo período, foi observada a maior incidência de injúrias foliares visíveis induzidas pelo ozônio.

5.3 Sintomas foliares visíveis

Diversos estudos apontam o potencial de *A. graveolens* como espécie bioindicadora de O₃ por manifestar sintomas foliares visíveis (Cassimiro 2015, Moura *et al.* 2018, Cassimiro & Moraes 2016, Cassimiro *et al.* 2016). Porém, no presente estudo não foram observados sintomas semelhantes aos encontrados nos trabalhos supracitados em nenhum indivíduo da espécie no decorrer de toda a exposição. Esta ausência de resposta não era esperada e deve ser resultado de variação genética intra-específica.

Desde muito tempo, vem sendo relatados resultados contrastantes entre variedades, cultivares e até mesmo clones de uma espécie. A espécie bioindicadora de O₃ mais empregada em biomonitoramento, *Nicotiana tabacum* Bel-W3, considerada hipersensível ao O₃, tem uma cultivar que é resistente a este poluente, a *N. tabacum* Bel-B (Heggestad 1991, Pedroso 2009). *Psidium guajava* 'Paluma' é uma cultivar produzida por melhoramento genético, mas as plantas utilizadas em estudos de biomonitoramento são clones. Os resultados apresentados em Pina & Moraes (2007) e Pina *et al.* (2010) mostram que a severidade dos danos varia entre indivíduos clonados cultivados e expostos ao O₃ de modo padronizado (modo semelhante ao presente estudo). No hemisfério Norte, muitas espécies são conhecidas por responderem ao ozônio de modo muito variável, principalmente *Populus tremuloides* Michx., que possuem clones tão sensíveis quanto *Nicotiana tabacum* Bel -W3 e outros bastante tolerantes ao O₃ (Karnosky *et al.* 2003, Isebrands *et al.* 2003).

Cassimiro (2015) realizou estudo com *A. graveolens* no mesmo sítio experimental e observou que indivíduos desta espécie apresentaram injúrias foliares ao longo de todo o ano, sendo mais intensas e precoces no período chuvoso, quando o fluxo estomático foi maior. No período seco, as injúrias manifestaram-se mais tarde, apesar das métricas apresentarem maior concentração de ozônio. Isto ocorre porque a entrada do poluente é modulada pela condutância estomática e as condições ambientais favoráveis para ela ocorrem no período chuvoso.

Segundo Pina (2010), a manifestação dos sintomas foliares visíveis é determinada por diversos fatores ambientais, como as condições meteorológicas (déficit de pressão de vapor, temperatura, umidade relativa, velocidade do vento, irradiância e fotoperíodo) e pela concentração dos poluentes. Entre os fatores bióticos que podem interferir na manifestação dos

sintomas, consideram-se as trocas gasosas e o sistema de defesa antioxidante da planta. Sendo assim, o biomonitoramento de respostas ao ozônio mostra-se mais eficiente quando são monitoradas todas as variáveis supracitadas.

Concentrações crescentes de ozônio coincidiram com o aumento do déficit de pressão de vapor e da radiação solar, o aumento destes dois fatores foi observado principalmente durante a primavera (setembro a dezembro), sendo assim, a absorção de O₃ e lesão das folhas podem ser menos pronunciadas em árvores tropicais expostas a essas condições ambientais (Moura 2013).

No presente estudo, é possível que as condições abióticas da exposição tenham contribuído para a ausência de sintomas foliares visíveis. As plantas podem ter se aclimatado ao poluente uma vez que foram expostas a concentrações baixas de O₃ na primavera. Além disso, as condições meteorológicas (déficit de pressão de vapor, temperatura, velocidade do vento e radiação fotossinteticamente ativa), junto com as concentrações mais altas de O₃ no verão, podem ter influenciado na redução da condutância estomática e, com isso, reduzido o fluxo de poluentes para o interior da folha, não resultando no aparecimento de injúrias foliares visíveis.

5.4 Trocas gasosas

5.4.1 Assimilação líquida de carbono

Nos primeiros dias de medidas em outubro, as plantas apresentaram as menores taxas de assimilação líquida de carbono em todos os horários de amostragem. As taxas mais altas de assimilação foram verificadas em dezembro e janeiro (Anexo II).

O valor máximo de A (15 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$) registrado neste estudo é igual ao obtido por Engela (2016), em estudo realizado com indivíduos adultos de *A. graveolens* em floresta mesófila semi-decídua do interior do estado de São Paulo durante o período úmido (primavera-verão). Entretanto, o mínimo obtido no presente estudo é inferior, 0,71 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ contra 3,0 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ no estudo de Engela (2016). Apesar disso, os resultados obtidos estão dentro do esperado para espécies arbóreas tropicais, como observado por Nogueira *et al.* (2004) e por Pina & Moraes (2010), que trabalharam em região contaminada por O₃. As autoras trabalharam com indivíduos jovens de *Psidium guajava* ‘Paluma’ e verificaram que a assimilação média variou de 7,83 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ na primavera a 6,29 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ no verão.

Durante o período da manhã, foram registradas as taxas de assimilação mais altas, indicando que este é o período com condições meteorológicas mais favoráveis às das trocas gasosas em *A. graveolens*. As condições favoráveis aferidas próximas ao local do experimento

foram: baixos valores de déficit de pressão de vapor, radiação fotossinteticamente ativa, temperatura e velocidade do vento, e altos valores de umidade relativa do solo e do ar. Isso já era esperado, pois desde há muito tempo se sabe que, nas regiões tropicais e subtropicais, o período em que a temperatura, o DPV e a radiação solar não são extremos, ou seja, as primeiras horas de luz do dia, é o melhor para a fotossíntese (Nobel 1999, Gurevitch *et al.* 2009). Com o decorrer das horas, temperatura, radiação solar e DPV aumentam muito e, por volta da metade do dia, as plantas vão precisar economizar água, reduzindo as trocas de água, mas também de CO₂.

Assim, as diferenças significativas entre os períodos da manhã e tarde, observadas em seis dias, podem estar relacionadas com as condições meteorológicas que foram aferidas no momento das medidas (Anexo II). Durante a tarde, foram registrados altos valores de déficit de pressão de vapor, radiação fotossinteticamente ativa, temperatura e velocidade do vento, e baixos valores de umidade relativa do solo e do ar durante a tarde, fatores que contribuíram para o fechamento estomático e posterior declínio na assimilação líquida de carbono. Esse declínio nas taxas de assimilação durante a tarde, também foi observado por Engela (2016), que observou que *A. graveolens* em condição de campo apresentou redução na assimilação após às 15h no período úmido.

5.4.2 Condutância estomática

Nos primeiros dias de medidas (outubro e novembro), as plantas apresentaram as menores taxas de condutância estomática em todos os períodos. Em apenas um dia (20/03/2019) foram verificadas taxas altas de condutância em todos os períodos (Anexo II).

O valor máximo (0,22 molm⁻²s⁻¹) e mínimo (0,00 molm⁻²s⁻¹) verificados no presente estudo, foram um pouco distintos dos valores observados por Engela (2016) 0,15 molm⁻²s⁻¹ às 11h, foi menor que o valor máximo, e o valor mínimo 0,04 molm⁻²s⁻¹ registrado às 17h, foi maior que o valor mínimo deste estudo.

Em estudo realizado por Pacheco (2001), indivíduos de *A. graveolens* com cinco anos de idade em campo, apresentaram valores de gs que variaram entre 0,25 molm⁻²s⁻¹ e 0,35 molm⁻²s⁻¹, durante a estação chuvosa, na estação seca observou-se uma queda nesses valores, foram mais altos do que os obtidos no presente estudo, e possivelmente se devem à idade da planta e condições de plantio em solo, não em vasos.

A condutância estomática média em indivíduos de *A. graveolens* em condição de campo, variou entre 0,10 e 0,22 molm⁻²s⁻¹ no horário das 7h às 16h (Gutiérrez *et al.* 2008). Outro estudo apresentou uma variação da mesma espécie entre 0,05 e 0,09 molm⁻²s⁻¹, a média

obtida no período da tarde, às 16h foi de $0,05 \text{ molm}^{-2}\text{s}^{-1}$, ocorrendo também, valores próximos a zero (Cassimiro 2015) corroborando com os valores mínimos que foram encontrados.

Indivíduos envasados de *Psidium guajava* ‘Paluma’, espécie arbórea tropical, também apresentaram condutância estomática mais alta no período da manhã (8h), com médias próximas a $0,30 \text{ molm}^{-2}\text{s}^{-1}$. Houve também, um declínio na condutância estomática ao longo do dia e ocorreram taxas próximas à zero (Assis 2014). Outro estudo com a mesma espécie e condições ambientais semelhantes, realizado por Pina & Moraes (2010) as plantas obtiveram uma taxa média durante primavera e verão de $0,19 \text{ molm}^{-2}\text{s}^{-1}$. *Psidium guajava*, entretanto, é uma espécie de crescimento rápido, portanto, apresenta taxas de trocas gasosas mais altas do que espécies secundárias tardias, de crescimento mais lento, como *A. graveolens*.

No período da manhã foram registradas as taxas mais altas de condutância, podendo ser, como mencionado acima, devido às condições meteorológicas favoráveis, ou seja, baixos valores de déficit de pressão de vapor, radiação fotossinteticamente ativa, temperatura e velocidade do vento, e altos valores de umidade relativa do solo e do ar.

As diferenças significativas encontradas nas taxas de condutância entre os períodos da manhã e tarde, observadas em sete dias, podem estar relacionadas com as condições meteorológicas. Na maioria dos casos, durante a tarde, foram registrados altos valores de déficit de pressão de vapor, radiação fotossinteticamente ativa, temperatura e velocidade do vento, e baixos valores de umidade relativa do solo e do ar, condições que podem ter contribuído para que as plantas fechassem seus estômatos. O aumento excessivo da temperatura e do déficit de pressão de vapor, foram fatores importantes que limitaram o funcionamento estomático em faia e trigo (Emberson *et al.* 2000).

5.4.3 Transpiração

Nos meses de outubro e novembro, foram observados os dias em que as plantas apresentaram as menores taxas de transpiração em todos os períodos (Anexo II). Em oposição, no dia 20 de março, as plantas apresentaram as taxas mais altas de transpiração no período da manhã e tarde, no dia 23 de janeiro, isto ocorreu no período do meio dia.

As medidas de transpiração da espécie *Psidium guajava* ‘Paluma’ realizadas em folhas jovens, durante a primavera, variaram entre 1,2 e $3,1 \text{ mmolm}^{-2}\text{s}^{-1}$, no verão, de 1,2 a $2,75 \text{ mmolm}^{-2}\text{s}^{-1}$ no período da manhã (Pina 2010).

As altas taxas de transpiração que foram registradas nas plantas, no período da manhã, podem estar associadas às condições meteorológicas favoráveis, ou seja, baixos valores de

déficit de pressão de vapor, radiação fotossinteticamente ativa, temperatura e velocidade do vento, e altos valores de umidade relativa do solo e do ar.

As diferenças significativas entre os períodos da manhã e tarde, observadas em três dias, podem estar relacionadas com as condições meteorológicas. Na maioria dos casos, no período da tarde, foram registrados altos valores de déficit de pressão de vapor, radiação fotossinteticamente ativa, temperatura e velocidade do vento, adjacentes a baixos valores de umidade relativa do solo e do ar. As temperaturas altas registradas neste período, podem provocar a excessiva perda de água nas plantas e causar o aumento na taxa de transpiração, com o intuito de minimizar esse efeito, a planta pode reduzir a condutância estomática (Gerosa *et al.* 2009).

A faixa de amplitude da variação da assimilação líquida de carbono e da condutância estomática, é maior que a variação da taxa de transpiração. Ou seja, apresentaram mais diferenças significativas entre os períodos, do que a transpiração. A assimilação e a condutância estomática neste estudo, foram afetadas de forma mais intensa, mostraram-se reduzidas no período da tarde, podendo ser, devido às interações com as condições meteorológicas no local do experimento ou à necessidade de *A. graveolens* possuir um controle mais eficiente da perda de água, visto a espécie predominar nas matas do interior do estado de São Paulo, que apresentam período seco definido.

5.5 Análise multivariada das variáveis bióticas e abióticas

Em relação à análise que sintetizou 64% da variabilidade total dos dados (componentes principais 1 e 2), as variáveis que determinaram o posicionamento das unidades amostrais ao longo do eixo 1 foram DPV e temperatura, com maior importância, seguidas da velocidade dos ventos e RFA. Essas variáveis se opuseram às trocas gasosas e a umidade relativa do ar. A umidade relativa do solo e o O₃ apresentaram pouca associação com o eixo 1 e, portanto, com a distribuição das unidades amostrais. Assim, as variáveis meteorológicas que determinaram a redução das trocas gasosas foram, principalmente, o aumento de DPV e temperatura, enquanto o aumento da URar foi associado ao aumento de A, gs e E. As condições favoráveis predominaram no período da manhã e as desfavoráveis, ar seco e quente, no período da tarde.

Quanto maior o déficit de pressão de vapor, ou seja, quanto mais seco estiver o ar, mais estômatos permanecerão fechados para evitar a perda excessiva de água para a atmosfera com isso, as taxas das trocas gasosas são reduzidas, portanto esta variável modula o funcionamento estomático (Mielke 1997). A redução da condutância estomática afeta tanto a assimilação de carbono quanto a transpiração das plantas, ocorrendo, geralmente, a diminuição de ambas as

taxas. Com isso, a planta restringe a entrada de CO₂ e a perda de água para a atmosfera (Nobel 1999).

O fechamento estomático nessas circunstâncias ocorre porque a planta não consegue transportar água na demanda exigida pelo alto déficit de pressão de vapor. Esse fechamento estomático limita as taxas fotossintéticas diárias das plantas, e foi observado em muitas espécies, como em várias do gênero *Eucalyptus* (Medlyn *et al.* 2007). O déficit de pressão de vapor e a intensidade de luz foram os principais fatores que controlaram a abertura dos estômatos em um estudo de campo realizado com *Picea abies* (Urban *et al.* 2012). Wang *et al.* (2020) também observaram que sob condição de DPV alto, *g_s* foi significativamente reduzida em álamo.

No estudo de Cassimiro (2015) com *A. graveolens*, o déficit de pressão de vapor se tornou limitante à condutância estomática a partir de 1,1 kPa. Durante o presente estudo, a demanda evaporativa foi bem mais alta, pois nenhum dia de amostragem apresentou valor igual ou menor a 1,1 kPa, sendo 1,82 kPa o menor valor registrado e o maior, 4,74 kPa. Em estudo realizado por Ribeiro *et al.* (2005) com *A. graveoleons*, em condições de alta radiação solar o valor de déficit de pressão de vapor variou entre 0,6 a 5,3 kPa, já em condições de radiação solar média, variou entre 0,7 a 3,8 kPa. Neste caso, o déficit de pressão de vapor causou redução na condutância estomática, provocando queda na transpiração das plantas em exposição a alta radiação solar. Assim, pode-se observar que valores mais favoráveis às trocas gasosas da espécie neste estudo, ocorreram em condições médias de radiação solar.

Contudo, os valores altos de déficit de pressão de vapor, podem ter contribuído para que esta variável fosse representada com alto valor de correlação e tivesse grande interação negativa com as trocas gasosas.

Em estudo realizado por Daudet e colaboradores (1999), a transpiração de *Juglans regia* em condições de campo, foi controlada principalmente pelo déficit de pressão de vapor, esta variável foi responsável por causar uma pequena redução na taxa fotossintética.

Espécies do cerrado em condições de campo, durante a estação seca, sob alto déficit de pressão de vapor, apresentaram tendência a taxas menores de condutância estomática reduzindo a transpiração e auxiliando no controle de água pelas folhas (Prado 2004). Resultados parecidos foram descritos para *Fagus sylvatica* e *Triticum aestivum*, em um modelo de funcionamento estomático, em que se observou que o déficit de pressão de vapor foi o principal fator limitante que causou o fechamento estomático resultando em baixos valores de transpiração (Emberson *et al.* 2000).

O aumento do déficit de pressão de vapor, por definição, está associado com o aumento da temperatura do ar. Em estudos realizados por Kagotani e colaboradores (2013) esses fatores

causaram a diminuição na condutância estomática de *Prunus yedoensis*. Os trabalhos supracitados corroboram com os resultados encontrados no presente estudo, sendo o déficit de pressão de vapor, uma das principais variáveis a modular as trocas gasosas.

A temperatura do ar foi oposta às trocas gasosas (A, gs, E), interferindo de forma negativa. Um mecanismo de proteção da planta para evitar a perda de água com o aumento da temperatura, é induzir o fechamento estomático, reduzindo a transpiração (Gerosa *et al.* 2009). O aumento da temperatura promove o aquecimento das folhas e consequentemente o aumento da transpiração, na maioria dos casos, podendo gerar impactos em processos fisiológicos, como na dinâmica enzimática da fotossíntese e da respiração (Lin *et al.* 2015, Vanderwel *et al.* 2015).

Altas temperaturas em cultivo *in vitro* da espécie *Nicotiana tabacum* do tipo selvagem, causaram queda considerável na atividade fotossintética (Murakami *et al.* 2000). As folhas que apresentam aquecimento excessivo, abrem os estômatos com isso, diminuem a temperatura foliar através da transpiração, sendo que a quantidade de água disponível pode influenciar estas respostas (Rizhsky *et al.* 2002).

A alta radiação solar pode estar associada ao aumento da temperatura ambiente. Essas duas variáveis foram responsáveis por redução significativa na fotossíntese em *Arisaema heterophyllum*, tanto nos indivíduos cultivados em sub-bosque de matas ciliares (folhas de sombra) quanto naqueles cultivados em local de clareira (folhas do sol) (Muraoka *et al.* 2000).

Em estudo realizado por Rizhsky e colaboradores (2002) indivíduos de *Nicotiana tabacum*, foram expostos a essas a altas temperaturas e estresse hídrico por falta de água. Com isso, as plantas apresentaram fechamento estomático, em consequência também apresentaram supressão da fotossíntese e aumento na temperatura das folhas.

A velocidade do vento ($r = 0,27$) foi a terceira variável que mais afetou as trocas gasosas e apresentou polaridade de forma mais acentuada com a condutância estomática. O vento pode ser um fator de estresse quando em excesso, causando o fechamento estomático. Dixon & Grace (1984) em estudo realizado com espécies arbóreas envasadas, encontraram taxas decrescentes de transpiração com o aumento da velocidade do vento, que pode ter sido causado pelo fechamento dos estômatos.

Ventos fortes foram responsáveis pelo aumento na condutância da camada limítrofe, aumentando a condutância estomática em *Abies amabilis* em condição de campo, o que facilitou a perda de água através da transpiração (Martin 1999).

Outro estudo realizado com diversas espécies vegetais, incluindo arbóreas em ambiente natural, registrou o leve aumento da transpiração em função do aumento da velocidade do vento. No entanto, a relação entre a velocidade do vento e o aumento do déficit de pressão de vapor,

foi mais representativa e devem ser considerados como fatores de influência direta na resistência estomática (Kim *et al.* 2014).

Daudet e colaboradores (1999) realizaram um estudo envolvendo indivíduos adultos da espécie arbórea *Juglans regia* expostos ao campo, e constataram que ventos fortes aumentaram o déficit de pressão de vapor que, foi um dos fatores que controlaram a transpiração, sendo a espécie mais sensível a esta variável do que as outras estudadas. Já a velocidade e direção do vento agiram de forma secundária, colaboraram pouco na queda da transpiração e não tiveram efeitos nas taxas fotossintéticas. O controle na transpiração realizada pelos estômatos permite a economia de água dentro da planta e pode ser de extrema importância caso a planta esteja passando por estresse hídrico (seca). Já Peñuelas *et al.* (1999) observaram que plantas de *Nicotiana tabacum* Bel-W3 quando expostas em lugares com ventos fortes, somente apresentaram injúrias quando as concentrações de O₃ foram muito elevadas, enquanto nos locais onde havia ventos pouco intensos os danos surgiram com concentrações baixas.

Em estudo realizado por Namba e colaboradores (2019), vasos contendo as espécies: *Machilus thunbergii*, *Fraxinus griffithii* e *Quercus myrsinifolia*, foram utilizados para compor um telhado verde, durante o monitoramento dos indivíduos, foi observado que o vento causou estresse hídrico nas plantas, contudo, após dois anos de experimento, as três espécies aclimataram-se hidraulicamente a esta variável, perda de turgor foliar e ajuste osmótico foram as formas de aclimação utilizada pela espécie. Sendo assim, os estudos apresentados estão de acordo com os efeitos que a velocidade do vento pode exercer sob as trocas gasosas que foram observados neste estudo.

A radiação fotossinteticamente ativa também contribuiu na redução das trocas gasosas; o excesso de radiação possivelmente foi prejudicial para a espécie.

Em condições naturais, as plantas podem estar expostas a alta intensidade de luz, com isso, podem absorver mais energia que o necessário para a fotossíntese. Esse excesso de energia luminosa, acima da capacidade de utilização pela fotossíntese, pode resultar em uma condição de fotoinibição (Almenara 1998), ou seja, pode haver a geração de espécies reativas de oxigênio, altamente danosas à integridade e funcionalidade celular (Barber & Andersson 1992, Oliveira 2002).

Observando os resultados estatísticos do presente estudo em conjunto com dados de resposta da espécie a radiação em campo encontrados em outros estudos, a alta radiação fotossinteticamente ativa pode ter causado fotoinibição nos indivíduos de *Astronium graveolens*, apesar de estas plantas terem passado pelo processo de aclimação à luz no viveiro em que foram adquiridas. Cabe ressaltar que *A. graveolens* pertence ao grupo das espécies secundárias, que são geralmente mais sensíveis à luz.

As espécies arbóreas tropicais são classificadas em dois grupos funcionais com base na tolerância da exposição à radiação solar: as espécies pioneiras são tolerantes à alta radiação solar e, portanto, teoricamente mais tolerantes ao estresse oxidativo. No outro grupo estão as espécies não pioneiras, que são adaptadas ao sombreamento e possivelmente menos tolerante ao estresse oxidativo (Favaretto *et al.* 2011). A espécie *Astronium graveolens* é secundária, mais sensível à luz e menos tolerante ao estresse oxidativo (Brandão *et al.* 2017). Em estudo realizado por Favaretto e colaboradores (2011), espécies pioneiras apresentaram melhor desempenho sob alta radiação solar do que espécies de sucessão tardia. As espécies pioneiras possuem mais tolerância aos danos foto-oxidativos devido a maior atividade de compostos antioxidantes, o contrário ocorre nas espécies de sucessão tardia.

Em um estudo com espécies pioneiras e secundárias expostas a condições ambientais de radiação, Ribeiro *et al.* (2005) verificaram que indivíduos de *A. graveolens* apresentaram fotoinibição e queda na assimilação, enquanto as espécies pioneiras apresentaram aumento significativo nas taxas de assimilação, com a mesma intensidade de luz. O mesmo foi observado por Nogueira *et al.* (2004).

O aumento da luz pode estimular as taxas de condutância estomática até determinado ponto, mas quando em excesso, pode ter efeito contrário. Segundo Cassimiro (2015) *A. graveolens*, atingiu a condutância máxima com valores próximos a $350 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, a partir de $650 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, a radiação foi considerada um fator limitante a condutância estomática. A autora, entretanto, utilizou sombrite 50% para cobrir as plantas. O ponto de saturação luminosa da espécie em plantas a pleno sol foi próximo de $600 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ no inverno e $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e no verão (dados de Cassimiro não publicados). Durante os 48 períodos de medidas de trocas gasosas do presente estudo, apenas em 8 foram registrados valores de radiação abaixo de $650 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, o que pode explicar a relação inversa entre radiação fotossinteticamente ativa e trocas gasosas na análise de componentes principais. A RFA esteve quase sempre próxima a $2000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Figura 12).

No eixo 2, a umidade relativa do solo mostrou-se oposta a temperatura do ar, apresentando uma relação inversamente proporcional, ou seja, em temperaturas altas a umidade relativa do solo diminuiu. Mesmo assim, não foram observados indícios de estresse hídrico por falta de água durante o experimento.

No horário da manhã (9h às 10h), as plantas apresentaram as maiores taxas das trocas gasosas, devido às condições meteorológicas mais favoráveis. No período da manhã, a umidade do ar foi maior, a temperatura, déficit de pressão de vapor e radiação fotossinteticamente ativa apresentam valores menores.

Outros estudos relatam altas taxas fotossintéticas durante o período da manhã, Eamus *et al.* (1999) em estudo com algumas espécies arbóreas em condições de campo no sudeste de Darwin (Austrália), observou taxas fotossintéticas mais altas no período da manhã do que no período da tarde, essa diferença ocorreu de forma mais representativa na estação seca, comparada a estação chuvosa. Para explicar este fenômeno, os autores abordaram alguns fatores: a temperatura da folha, que geralmente é mais alta durante a tarde, comparando com a manhã (Eamus & Cole 1997), o déficit de pressão de vapor, que também é maior no período da tarde e frequente na estação seca (Duff *et al.* 1997), fator determinante do movimento estomático, e o grande gradiente de potencial hídrico que pode ser gerado quando as folhas aumentam a transpiração, reduzindo as taxas de assimilação. Contudo, os autores relatam que a redução na taxa de assimilação durante a estação seca foi causada por fatores associados indiretamente com o déficit de pressão de vapor.

A redução nas taxas das trocas gasosas registrada no último período de amostragem (14h às 15h) aconteceu, devido ao aumento do déficit de pressão de vapor, radiação fotossinteticamente ativa e temperatura do ar. Resultados semelhantes, que relatam a queda na condutância estomática e na assimilação líquida de carbono ao longo do dia em indivíduos de *A. graveolens*, foram observados por Engela (2016), uma queda acentuada tanto na assimilação, quanto na condutância estomática foram observadas após as 15h no período da primavera e verão.

Essa redução nas taxas fotossintéticas também foi observada na espécie perene *Roupala montana*, presente nas savanas sazonais do Brasil, a redução nas taxas fotossintéticas ocorreu a partir do meio-dia, provenientes do parcial fechamento estomático que ocorreram em ambas as estações, chuvosa e seca durante o experimento de campo (Franco 1998). O mesmo ocorreu em estudo realizado por Urban *et al.* (2012), uma redução nas taxas fotossintéticas durante o período da tarde em indivíduos de *Picea abies* em condições de campo, essa redução ocorreu em resposta ao fechamento estomático, associado a maiores déficits de pressão de vapor e menor potencial hídrico das plantas. Importante ressaltar que estes fenômenos foram observados apenas em dias de alta radiação solar.

Altos valores de déficit de pressão de vapor, radiação e temperatura do ar após o meio-dia podem conduzir o fechamento estomático, como ocorreu no presente estudo e já foi relatado por outros autores (Emberson *et al.* 2000, Franco & Lüttge 2002, Prado *et al.* 2004). O déficit de pressão de vapor e a radiação foram as principais variáveis associadas à redução das trocas gasosas em folhas jovens de *P. guajava* ‘Paluma’ (Pina *et al.* 2010).

Ao contrário do esperado, a concentração de ozônio ao longo do experimento não foi associada à redução das trocas gasosas, mesmo no verão, quando foi mais alta. A figura 23

mostra sua pequena associação com o eixo 1, onde estão situadas as trocas gasosas. Este fato pode estar associado a grande interferência negativa das condições meteorológicas nas trocas gasosas neste estudo. Segundo Wang *et al.* (2020), as condições meteorológicas podem alterar muito a resposta das plantas aos poluentes. No presente estudo, déficit de pressão de vapor, temperatura do ar, velocidade do vento e radiação fotossinteticamente ativa foram associados à redução das taxas das trocas gasosas, reduzindo a condutância estomática e, deste modo, o fluxo de O₃ para o interior da planta, independentemente de sua concentração no ar do sítio experimental.

O DPV foi a variável que mais afetou as trocas gasosas no presente estudo. Esta variável é relacionada à condutância estomática, que é de extrema relevância, pois determina a concentração de O₃ que efetivamente alcançará o interior da folha (Emberson *et al.* 2000, 2003, CLRTAP 2017). Este fato foi verificado nos estudos de Li *et al.* (2017) e Wang *et al.* (2020), que confirmaram que o aumento do DPV pode proteger as espécies vegetais de concentrações altas de O₃ por meio da redução da condutância estomática. Na presença de maior umidade, concentrações altas de O₃ levaram a injúrias foliares mais severas e precoces do que em períodos secos (Pina & Moraes 2007, Li *et al.* 2017). Isto pode ter acontecido neste experimento. É possível que a exposição a concentrações mais baixas de O₃ durante a primavera tenha aclimatado as mudas de *A. graveolens* a esse poluente e, posteriormente, quando as concentrações aumentaram no verão, essa aclimação juntamente com alto DPV tenham protegido as plantas contra o estresse induzido pelo O₃.

Cabe ressaltar que as plantas utilizadas neste experimento foram compradas no mesmo viveiro, cultivadas do mesmo modo e expostas no mesmo local utilizado no experimento de Cassimiro *et al.* (2016), em que foram observadas injúrias foliares semelhantes às induzidas pelo ozônio em todas as estações do ano e com apenas três meses de exposição. Entretanto, após os resultados obtidos, o viveiro foi procurado e informou que quando as matrizes de *A. graveolens* não produzem sementes na qualidade ou quantidade adequadas, eles compram mudas provenientes de outras regiões do estado de São Paulo. É possível que as plantas utilizadas neste estudo tenham diferenças genéticas que lhes confirmem maior tolerância ao ozônio.

Para testar a sensibilidade das mudas, assim que terminamos o experimento, foi realizado um teste que constou de duas fumigações em câmaras fechadas ventiladas com concentração média de 150 ppb 3h por dia enquanto outra câmara recebia ar filtrado e duração de 9 dias. Nestas condições, as plantas apresentaram sintomas visíveis e reduziram as trocas gasosas (Anexo III), entretanto, as respostas mais evidentes foram aceleração da senescência e abscisão foliar, que atingiram as plantas de modo muito mais severo do que os sintomas

visíveis. Assim, comprovamos que as plantas utilizadas são sensíveis ao O₃, mas em menor grau do que as utilizadas por Cassimiro *et al.* (2015) e com resposta diferente. Trata-se, possivelmente de um caso de variabilidade genética intra-específica.

A existência de genótipos com diferentes sensibilidades ao O₃ vem sendo investigada desde o final do século passado. Paakkonen e colaboradores (1997) utilizando sistemas de fumigação em campo, observaram que a variação da sensibilidade de clones de Bétula foi grande, variando de muito sensível a muito tolerante, mostrou também, que os clones que apresentaram diferenças na sensibilidade do ozônio, originaram-se heterogeneamente de diferentes regiões da Finlândia. A tolerância ao ozônio nesta espécie está relacionada as folhas mais espessas e alta densidade de estômatos. Bassin *et al.* (2004) relatam grande diferença de sensibilidade ao O₃ em indivíduos de *Centaurea jacea*. Isto também foi verificado em estudo realizado por Shang e colaboradores (2018), eles observaram respostas bióticas diferentes entre dois clones de álamo com a mesma concentração de ozônio. Cultivares de *Psidium guajava* também diferem em sua resposta ao O₃ (Moraes *et al.* 2011). Este é um tema que deve ser explorado em *Astronium graveolens*, comparando-se indivíduos de diferentes procedências.

6. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos evidenciam que as condições meteorológicas afetaram as respostas de indivíduos de *Astronium graveolens* ao ozônio.

Para realizar experimentos de biomonitoramento da qualidade do ar, é interessante utilizar espécies vegetais que possuam alta ou moderada condutância estomática, para que os poluentes atmosféricos consigam adentrar a folha e assim, interagir com o organismo resultando em respostas bióticas. *Astronium graveolens* foi muito afetada pelo aumento do déficit de pressão de vapor e da temperatura, principalmente no período da tarde, esses fatores limitaram a condutância estomática, um fator importante no fluxo de ozônio para o interior das folhas. A limitação estomática pode ter protegido as plantas das altas concentrações de O₃ que foram registradas, com isso, os indivíduos não apresentaram injúrias foliares visíveis. A variabilidade genética intraespecífica deve ser alta e também pode ter influenciado de forma positiva na proteção e reparo de possíveis efeitos induzidos pelo ozônio. A hipótese do estudo, de que o ozônio seria o principal limitante às trocas gasosas foi rejeitada. O fato de existirem populações da espécie mais sensíveis do que outras não recomenda sua utilização como espécie bioindicadora de ozônio, mas que são necessários mais estudos para identificar os genótipos sensíveis e determinar o potencial bioindicador da espécie, apontado em estudos anteriores.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ainsworth, E.A., Yendrek, C.R., Sitch, S., Collins, W.J. & Emberson, L.D.** 2012. The effects of tropospheric of ozone on net primary productivity and implications for climate change. *Annual Review of Plant Biology* 63: 637-661.
- Ackerly, D. D. & Bazzaz, F. A.** 1995. Leaf dynamics, self-shading and carbon gain in seedlings of a tropical pioneer tree. *Oecologia* 101: 289–298.
- Almenara, M.R.** 1998. Definição e Ocorrência da Fotoinibição. LEAF. <<http://server2.iq.ufrj.br/~almenara/fotoinibicao.htm>.>
- Ashmore, M.R.** 2005. Assessing the future global impacts of ozone on vegetation. *Plant, Cell and Environment* 28: 949-964.
- Assis, P.I.L.S.** 2014. Fluxo estomático de ozônio e sintomas foliares visíveis em *Psidium guajava* L. ‘Paluma’. Dissertação de mestrado. Instituto de Botânica de São Paulo.
- Arndt, U., & Schweizer, B.** 1991. The use of bioindicators for environmental monitoring in tropical and subtropical countries. In: Ellenberg, H., Arndt, U., Bretthauer, R. & Ruthsatz, B. L. (eds.). *Steubing Biological monitoring: signals from the environment*. Vieweg & Sons, Eschborn, pp. 199-260.
- Atkin, O.K. et al.,** 2015. Global variability in leaf respiration in relation to climate, plant functional types and leaf traits. *New Phytologist* 206: 614–636.
- Baek, S.O., Field, R.A., Goldstone, M.E., Kirk, P.W., Lester, J.N. & Perry R.** 1991. A review of atmospheric polycyclic hydrocarbons: sources, fate and behaviour. *Water Air Soil Pollution* 60: 279–300.
- Barber, J. & Andersson, B.** 1992. Too much of a good thing: light can be bad for photosynthesis. *TIBS* 17: 61-66.
- Bassin, S., Kolliker, R., Creton, C., Bertossa, M., Widmer, F., Bungene, P. & Fuhrer, J.** 2004. Intra-specific variability of ozone sensitivity in *Centaurea jacea* L., a potential bioindicator for elevated ozone concentrations. *Environmental Pollution* 131: 1-12.
- Barkley, F.A.** 1968. Anacardiaceae: Rhoideae: *Astronium*. *Phytologia* 16: 107-152.

- Bermejo, V., Alonso, R., Elvira, S., Rábago, I. & García, M.** 2010. El ozono troposférico y sus efectos en la vegetación. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, Madrid.
- Boian, C. & Andrade, M.F.** 2012. Characterization of ozone transport among Metropolitan Regions. *Revista Brasileira de Meteorologia* 27: 229-242.
- 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.
- Cançado, J.E., Braga, A., Pereira, L.A., Arbex, M.A., Saldiva, P.H. & Santos, U.P.** 2006. Clinical repercussions of exposure to atmospheric pollution. *Jornal Brasileiro de Pneumologia* 32: 5-11.
- Brakke, M. & Allen, Jr., L.H.** 1995. Gas exchange of citrus seedlings at different temperatures, vapor-pressure deficits, and soil water content. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 120: 497-504.
- Brandão, S. E., Bulbovas, P., Lima, M. E., & Domingos, M.** 2017. Biochemical leaf traits as indicators of tolerance potential in tree species from the Brazilian Atlantic Forest against oxidative environmental stressors. *Science of The Total Environment* 575: 406-417.
- Brock, T. D.** 1981. Calculating solar radiation for ecological studies. *Ecological Modelling* 14:1-19.
- Buchanan, B. B., Gruissem, W., & Jones, R. L.** 2015. *Biochemistry and molecular biology of plants*. John Wiley & Sons. Hoboken.
- Bussotti, F., Agati, G., Desotgiu, R., Matteini, P. & Tani, C.** 2005. Ozone foliar symptoms in woody plant species assessed with ultrastructural and fluorescence analysis. *New Phytologist* 166: 941–955.
- Cassimiro, J.C.** 2015. Avaliação de índice de proteção à vegetação baseado na dose fitotóxica de ozônio. Dissertação de Mestrado. Instituto de Botânica de São Paulo.
- Cassimiro, J.C. & Moraes, R.M.** 2016. Responses of a tropical tree species to ozone: visible leaf injury, growth, and lipid peroxidation. *Environmental Science and Pollution Research* 23: 8085-8090.

Cassimiro, J.C., Moura, B.B., Alonso, R., Meirelles, S.T. & Moraes, R.M. 2016. Ozone stomatal flux and O₃ concentration-based metrics for *Astronium graveolens* Jacq., a Brazilian native forest tree species. *Environmental Pollution* 213: 1007-1015.

Castell-Balaguer, N., Téllez, L., & Mantilla, E. 2012. Daily, seasonal and monthly variations in ozone levels recorded at the Turia river basin in Valencia (Eastern Spain). *Environmental Science and Pollution Research* 19: 3461-3480.

CETESB - Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. 2018. Relatório de qualidade do ar no estado de São Paulo. Série Relatórios. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental.

CETESB - Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. 2018. Relatório de emissões veiculares no estado de São Paulo. Série Relatórios. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental.

CLRTAP. 2017. Manual on methodologies and criteria for modelling and mapping critical loads and levels and air pollution effects, risks and trends. Chapter 3: Mapping critical levels for vegetation <[http:// icpvegetation.ac.uk](http://icpvegetation.ac.uk)>

Daudet, F.A., Le Roux, X., Sinoquet, H. & Adam, B. 1999. Wind speed and leaf boundary layer conductance variation within tree crown: consequences on leaf-to-atmosphere coupling and tree functions. *Agricultural and Forest Meteorology* 97: 171–185.

Decreto Estadual nº 59.113/2013 de 23/04/2013, estabelece padrões de qualidade do ar e dá providências correlatas. Publicação DO: 24/04/2013, p.1.

De Temmerman, L., Vanongeval, L., Boon, W. & Hoenig, M. 2003. Heavy metal content of arable soil in Northern Belgium. *Water, Air and Soil Pollution* 148: 61-76.

Díaz-Espejo, A., Nicolas, E. & Fernandez, J.E. 2007. Seasonal evolution of diffusional limitations and photosynthetic capacity in olive under drought. *Plant Cell and Environment* 30: 922-933.

Dixon, M. & Grace, J. 1984. Effect of wind on the transpiration of young trees. *Annals of Botany* 53: 811– 819.

Domingos, M., Bulbovas, P., Camargo, C.Z.S., Aguiar-Silva, C., Brandão, S.E., Dafré-Martinelli, M., Dias, A.P., Engela, M.R.S., Gagliano, J., Moura, B.B., Alves, E.S., Rinaldi,

M.C.S., Gomes, E.P.C., Furlan, C.M. & Figueiredo, A.M.G. 2015. Searching for native tree species and respective potential biomarkers for future assessment of pollution effects on the highly diverse Atlantic Forest in SE-Brazil. *Environmental Pollution* 202: 85-95.

Duarte, M. 2004. Cultivo da pimenteira-do-reino na Região Norte. Embrapa Amazônia Oriental-Sistema de Produção (INFOTECA-E).

Duff, G.A., B. Myers, R.J. Williams, D. Eamus, A. O’Grady & I.R Fordyce. 1997. Seasonal patterns in soil moisture, VPD, tree canopy cover and predawn potential in a northern Australian savanna. *Australian Journal of Botany* 45: 211-224.

Eamus, D. & S.C. Cole. 1997. Diurnal and seasonal comparisons of assimilation, phyllode conductance and water potential of three Acacia and one Eucalypt species in the wet-dry tropics of Australia. *Australian Journal of Botany* 45: 275-290.

Eamus, D., Myers, B., Duff, G., & Williams, D. 1999. Seasonal changes in photosynthesis of eight savanna tree species. *Tree physiology* 19: 665-671.

Emberson, L.D. & Ashmore, M.R., Cambridge, H.M, Simpson, D. & Tuovinen, J. 2000. Modelling stomatal ozone flux across Europe. *Environmental Pollution* 109: 403–413.

Emberson, L., Ashmore, M., & Murray, F. 2003. Air pollution impacts on crops and forests: a global assessment. Imperial College Press. London.

Engela, M.R.G.S. 2016. Variações no conteúdo e na composição de carboidratos solúveis e de compostos fenólicos em espécies arbóreas de Floresta Estacional Semidecidual em resposta a poluentes aéreos. Dissertação de mestrado. Instituto de Botânica de São Paulo.

EPA, Environmental Protection Agency. 2006. Air quality criteria for ozone and related photochemical oxidants (final report, 2006). U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, EPA/600/R-05/004aF-cF.

Favaretto, V.F., Martinez, C.A., Soriani, H.H. & Furriel, R.P.M. 2011. Differential responses of antioxidant enzymes in pioneer and late-successional tropical tree species grown under sun and shade conditions. *Environmental and Experimental Botany* 70: 20–28.

Fernandes, F.F. 2015. Marcadores microscópicos para a validação de sintomas em espécie nativa a ser empregada no biomonitoramento do ozônio. Dissertação de Mestrado, Instituto de Botânica, São Paulo.

- Fernandes, F. F., Cardoso, G. P. & Alves, E. S.** 2016. Synergism between ozone and light stress: structural responses of polyphenols in a woody Brazilian species. *Chemosphere* 155: 573-582.
- Foyer, C.H. & Noctor, G.** 2005. Oxidation and antioxidant signaling in plants: a re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context. *Plant, Cell & Environment* 28: 1056.
- Franco, A.C.** 1998. Seasonal patterns of gas exchange, water relations and growth of *Roupala montana*, an evergreen savanna species. *Plant Ecology* 136: 69-76.
- Franco, A. C. & Lüttge, U.** 2002. Midday depression in savanna trees: coordinated adjustments in photochemical efficiency, photorespiration, CO₂ assimilation and water use efficiency. *Oecologia* 131: 356–365.
- Freedman, B.** 1995. Environmental ecology: the ecological effects of pollution, disturbance, and others stresses. Elsevier. San Diego.
- Fuhrer, J., Skärby, L. & Ashmore, M.R.** 1997. Critical levels for ozone effects on vegetation in Europe. *Environmental Pollution* 97: 91-106.
- Fumagalli, I., Gimeno, B.S., Velissariou, D., Temmerman, de.L. & Mills, G.** 2001. Evidence of ozone-induced adverse effects on crops in the Mediterranean region. *Atmospheric Environment* 35: 2583-2587.
- Gerosa, B., Marzuoli, R., Desotgiu, R., Bussotti, F. & Ballarin-Denti, A.** 2009. Validation of the stomatal flux approach for the assessment of ozone visible injury in young forest trees. Results from the TOP (transboundary ozone pollution) experiment at Curno, Italy. *Environmental Pollution* 157: 1497-1505.
- Gill, S.S. & Tuteja, N.** 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology Biochemical* 12: 909 – 930.
- Gimeno, B.S., Bermejo, V., Sanz, J., de la Torre, D., Gil, J.M. & Elvira, S.** 2004. Growth response to ozone of annual species from Mediterranean pastures. *Environmental Pollution* 132: 297–306.

- Guaratini, M. T. G., Gomes, E. C. P., Tamashiro, J. Y., & Rodrigues, R. R.** 2008. Composição florística da Reserva Municipal de Santa Genebra, Campinas, SP. *Revista Brasileira de Botânica* 31: 323–337.
- Gucci, R., Massai, R., Xiloyannis, C. & Flore, J. A.** 1996. The effect of drought and vapor pressure deficit on gas exchange of young kiwifruit (*Actinidia deliciosa* var. *deliciosa*) vines. *Annals of Botany* 77: 605-613.
- Gurevitch, J., Scheiner, S. M., & Fox, G. A.** 2009. *Ecologia Vegetal-2*. Artmed Editora. Porto Alegre.
- Gutiérrez-Soto, M. V., Pacheco, A., & Holbrook, N. M.** 2008. Leaf age and the timing of leaf abscission in two tropical dry forest trees. *Trees* 22: 393-401.
- Halliwell, B. & Gutteridge, C.** 2006. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiology* 141: 312-322.
- Hammer, Ø., Harper, D.A.T. & Ryan, P.D.** 2009. Paleontological Statistics software package for education and data analysis. *Paleontological Electronica* 4: 9.
- Heath, R.** 2009. 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.
- Hiram-Jr, H.F.B.** 2010. Espécies com vocação para facilitar processos de restauração espontânea de ecossistemas perturbados na vertente atlântica da Serra do Mar, Piraí – RJ. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
- IAG/USP – Instituto de Astronomia, Geofísica e Ciências atmosféricas da USP.** 2019. Boletins mensais da estação meteorológica IAG-USP.

Isebrands, J. G., McDonald, E. P., Kruger, E., Hendrey, G. R., Percy, K. E., Pregitzer, K. S. & Karnosky, D. F. 2003. Growth responses of aspen clones to elevated carbon dioxide and ozone. *Developments in Environmental Science* 3: 411-435.

Iogna, P.A., Bucci, S.J., Scholz, F.G. & Goldstein, G. 2013. Homeostasis in leaf water potentials on leeward and windward sides of desert shrub crowns: water loss control vs. high hydraulic efficiency. *Oecologia* 173: 675– 687.

IPCC, 2013: Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Stocker, T.F., D. Qin, G.-K. Plattner, M. Tignor, S.K. Allen, J. Boschung, A. Nauels, Y. Xia, V. Bex & P.M. Midgley (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, 1535 p.

Iriti, M. & Faoro, F. 2008. Oxidative Stress, the Paradigm of Ozone Toxicity in Plants and Animals. *Water Air Soil Poll* 187: 285–301.

Kagotani, Y., Fujino, K., Kazama, T. & Hanba, Y.T. 2013. Leaf carbon isotope ratio and water use efficiency of urban roadside trees in summer in Kyoto city. *Ecological Research* 28: 725–734.

Karnosky, D. F., Zak, D. R., Pregitzer, K. S., Awmack, C. S., Bockheim, J. G., Dickson, R. E. & Kruger, E. L. 2003. Tropospheric O₃ moderates responses of temperate hardwood forests to elevated CO₂: a synthesis of molecular to ecosystem results from the Aspen FACE project. *Functional Ecology* 17: 289-304.

Kim, D., Oren, R., Oishi, A.C, Hsieh, C-I., Phillips, N., Novick, K.A. & Stoy, P.C. 2014. Sensitivity of stand transpiration to wind velocity in a mixed broadleaved deciduous forest. *Agricultural and Forest Meteorology* 187: 62– 71.

Kley, D., Kleinmann, M., Sanderman, S. & Krupa, S. 1999. Photochemical oxidants: state of the science. *Environmental Pollution* 100: 19-42.

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 descriptors of ozone pollution. *Atmospheric Environment* 40: 7437-7448.

- Krupa, S.V. & Manning, W.J.** 1988. Atmospheric ozone: formation and effects on vegetation. *Environmental Pollution* 50: 101-137.
- Krupa, S.V., 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 Disease* 85: 4-12.
- Levy, I., Mihele, C., LU, G., Narayan, J., Hilker, N., & Brook, J. R.** 2014. Elucidating multipollutant exposure across a complex metropolitan area by systematic deployment of a mobile laboratory. *Atmospheric Chemistry and Physics* 14: 7173-7193.
- Li, P., Feng, Z., Catalayud, V., Yuan, X., Xu, Y. & Paoletti, E.** 2017. A meta-analysis on growth, physiological, and biochemical responses of woody species to ground-level ozone highlights the role of plant functional types. *Plant, Cell and Environment* 40: 2369-2380.
- Lin, Y., Medlyn, B., Duursma, R. et al.** 2015. Optimal stomatal behavior around the world. *Nature Climate Change* 5: 459–464.
- Lorenzi, H.** 2002. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Plantarum. Nova Odessa.
- Long, S.P. & Naidu, S.L.** 2003. Effects of oxidants at the biochemical, cell and physiological levels, with particular reference to ozone. *In*: Bell, J.N.B. & Treshow, M. (eds.). *Air pollution and plant life*. John Wiley & Sons Ltd, England, pp. 69-88.
- Ma, Y., Ma, F-W. & Wang, Y.H.** 2011. The responses of the enzymes related with ascorbate–glutathione cycle during drought stress in apple leaves. *Acta physiology Plant* 33:173–180.
- Manahan, S. E.** 1999. *Industrial ecology: environmental chemistry and hazardous waste*. CRC Press. Boca Raton.
- Martin, T.A., Hinckley, T.M., Meinzer, F.C. & Sprugel, D.G.** 1999. Boundary layer conductance, leaf temperature and transpiration of *Abies amabilis* branches. *Tree Physiology* 19: 35–43.
- Medina, C. L., Machado, E. C., & Pinto, J.** 1998. Fotossíntese de laranjeira 'Valência' enxertada sobre quatro porta-enxertos e submetida à deficiência hídrica. *Bragantia* 57:1.

- Medlyn, B. E., Pepper, D. A., O'Grady, A. P. & Keith, H.** 2007. Linking leaf and tree water use with an individual-tree model. *Tree Physiology* 27: 1687–1699.
- Mielke, M.S.** 1997. Regulação fisiológica e ambiental das trocas gasosas num plantio clonal de híbridos de *Eucalyptus grandis* Hill ex-Maiden. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Viçosa.
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M. & Van Breusegem, F.** 2004. Reactive oxygen gene network of plants. *Trends in Plant Science* 9: 490–98.
- Mittler, R.** 2006. Abiotic stress, the field environment and stress combination. *Trends in Plant Science* 11: 15– 19.
- Mota, F. S.** 1983. Meteorologia agrícola-7. Nobel. São Paulo.
- Moraes, R. M., Furlan, C. M., Meirelles, S. T., Santos, D.Y.A.C., Souza, S.R., Viola, S. R. A. S., Rezende, F.M., Domingos, R.L. & Barbosa, J.** 2011. Avaliação da sensibilidade da goiabeira 'Pedro Sato' ao ozônio. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 46: 971-978.
- Moura, B.B.** 2013. Análises estruturais e ultraestruturais em folhas de espécies nativas sob influência de poluentes aéreos. Tese de doutorado. Instituto de Botânica de São Paulo.
- Moura, B.B., Alves, E.S., Souza, S.R. Domingos, M. & Vollenweider, P.** 2014. Ozone phytotoxic potential with regard to fragments of the Atlantic Semi-deciduous Forest downwind of Sao Paulo, Brazil. *Environmental Pollution* 192: 65-73.
- Moura, B. B., Alves, E. S., Marabesi, M. A., Souza, S. R., Schaub, M. & Vollenweider, P.** 2018. Ozone affects leaf physiology and causes injury to foliage of native tree species from the tropical Atlantic Forest of southern Brazil. *Science of the Total Environment* 610: 912–925.
- Murakami, Y., Tsuyama, M., Kobayashi, Y., Kodama, H. & Iba, K.** 2000. Trienoic fatty acids and plant tolerance of high temperature. *Science* 287:476–79.
- Murata, N., Takahashi, S., Nishiyama, Y., & Allakhverdiev, S.I.** 2007. Photoinhibition of photosystem II under environmental stress. *Biochemical et Biophysics Acta* 1767: 414-421.
- Namba, Y., Inoue, S., Fujita, M., Noguchi, Y., Hara, C., & Ishii, H.** 2019. Acclimation potential of three evergreen tree species to wind-induced water stress in an urban green-roof environment. *Urban Forestry & Urban Greening* 43: 126386.

Nobel, P. S. 1999. Physicochemical & environmental plant physiology. Academic press. San Diego.

Nogueira, A., Matinez, C.A., Ferreira, L.L. & Prado, C.H.B.A. 2004. Photosynthesis and water use efficiency in twenty tropical tree species of differing succession status in a Brazilian reforestation. *Photosynthetica* 42: 351-356.

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.

Oliveira Filho, D., Mantovani, E. C. & Pereira, S. 2000. Tecnologia de determinação da umidade do solo via reflectometria no domínio do tempo. In Proceedings of the 3. Encontro de Energia no Meio Rural.

Oliveira, J., Alves, P.L.C.A. & Magalhaes, A.C. 2002. The effect of chilling on the photosynthetic activity in coffee (*Coffea arabica* L.) seedlings: The protective action of chloroplastid pigments. *Brazilian Journal Plant Physiology* 14: 95-104.

Overmyer, K., Wrzaczek, M. & Kangasjärvi, J. 2009. Reactive Oxygen Species in Ozone Toxicity. In: Baluška, F., Vivanco, J. (eds.). *Signaling and Communication in Plants*. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 191-207.

Pacheco M., A. 2001. Efecto de la edad de la hoja sobre el inicio de la caída del follaje en dos especies del bosque tropical seco con fenología contrastante, *Bombacopsis quinata* (Bombacaceae) y *Astronium graveolens* (Anacardiaceae). Dissertação de mestrado. Ciudad Universitaria Rodrigo Facio.

Pääkkönen, E., Holopainen, T., & Kärenlampi, L. 1997. Variation in ozone sensitivity among clones of *Betula pendula* and *Betula pubescens*. *Environmental Pollution* 95: 37-44.

Paoletti, E. & Manning, W.J. 2007. Toward a biologically significant and usable standard for ozone that will also protect plants. *Environmental Pollution* 150: 85-95.

Pedroso, A.N.V. 2009. Alterações estruturais, ultraestruturais e histoquímicas em folhas de *Nicotiana tabacum* “Bel-W3”(Solanaceae). Tese de Doutorado. Instituto de Botânica de São Paulo.

Pell, E.J., Temple, P.J., Friend, A.L., Mooney, H.A. & Winner, W.E. 1994. Compensation as a plant response to ozone and associated stresses: an analysis of ROPIS experiments. *Journal of Environmental Quality* 23: 429-436.

Pell, E.J., Schlaugnhauer, C.D. & Arteca, R.N. 1997. Ozone induced oxidant stress: mechanisms of action and reaction. *Physiologia Plantarum* 100: 264-273.

Pereira, A.R., Angelocci, L.R. & Sentelhas, P.C. 2002. Agrometeorologia – fundamentos e aplicações práticas. Agropecuária. Guaíba.

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, São Paulo, SP. Tese de Doutorado. Instituto de Botânica de São Paulo.

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. & 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.

Pleijel, H., Danielsson, H., Ojanper, K., De Temmerman, L., Högy, P., Badiani, M. & Karlsson, P.E. 2004. Relationships between ozone exposure and yield loss in European wheat and potato a comparison of concentration- and flux-based exposure indices. *Atmospheric Environment* 38: 2259–2269.

Pleijel, H., Danielsson, H., Vandermeiren, K., Blum, C., Colls, J. & Ojanperä, K. 2002. Stomatal conductance and ozone exposure in relation to potato tuber yield – results from the European CHIP program European. *Journal of Agronomy* 17: 303-317.

Portal DETRAN. 2019. Estatística de trânsito. Disponível em: <<https://www.detran.sp.gov.br/wps/wcm/connect/portaldetran/detran/detran/estatisticatransito/sa-frotaveiculos/d28760f7-8f21-429f-b039-0547c8c46ed1>>

Prado, C.H.B.A., Wenhui, Z., Rojas, M.H.C. & Souza, G.M. 2004. Seasonal leaf gas exchange and water potential in a cerrado woody species community. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 16:7-16.

Qu, A. L., Ding, Y. F., Jiang, Q. & Zhu, C. 2013. Molecular mechanisms of the plant heat stress response. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 432: 203 – 207.

Resolução CONAMA 491/2018 de 19/11/2018, dispõe sobre os padrões de qualidade do ar previstos no PRONAR. Publicação DOU: 21/11/2018, p. 155-156

Ribeiro, R.V., Souza, G.M., Oliveira, R.F. & Machado, E.C. 2005. Photosynthetic responses of tropical tree species from different successional groups under contrasting irradiance conditions. *Revista Brasileira de Botânica* 28:149-161.

Rizhsky, L., Liang, H. & Mittler, R. 2002. The combined effect of drought stress and heat shock on gene expression in tobacco. *Plant Physiology* 130: 1143–1151.

Rizhsky L., Liang H., Shuman J., Shulaev V., Davletova S. & Mittler, R. 2004. When defense pathways collide. The response of *Arabidopsis* to a combination of drought and heat stress. *Plant Physiology* 134: 1683– 1696.

Shang, B. Feng, Z., Li, P. & Calatayud, V. 2018. Elevated ozone affects C, N and P ecological stoichiometry and nutrient resorption of two poplar clones. *Environmental Pollution* 234: 136-144.

Sanz, M.J., Peña, G.S., Calatayud, V., Gallego, M.T. & Cerveró, J. 2002. La contaminación atmosférica de los bosques: guía para la identificación de daños visibles causados por ozono. Ministerio del Medio Ambiente, Madrid.

Sawyer, R.F., Harley, R.A., Cadle, S.H., Norbeck, J.M., Slott, R. & Bravo, H.A. 2000. Mobile sources critical review: 1998 NARSTO assessment. *Atmospheric Environment* 34: 2161-2181.

Silva-Luz, C. L. & Pirani, J. R. 2013. Anacardiaceae. In: Lista de Espécies da Flora do Brasil. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro.

Syvertsen, J.P. & Lloyd, J.J. 1994. Citrus. In: Schaffer, B. & Andersen, P.C. (eds.). Handbook of environmental physiology of fruit crops. Boca Raton, CRC, pp 65-99.

Taiz L & Zeiger E. 2009. Fisiologia vegetal-4. Artmed. Porto Alegre.

Tardieu, F. & Davies, W.J. 1992. Stomatal response to abscisic acid is a function of current plant water status. *Plant Physiology* 98: 540–545.

Telewski, F.W. 1995. Wind-induced physiological and developmental responses in trees. In: Coutts, M.P. & Grace, J. (eds.). Wind and trees. Cambridge University Press, Cambridge, pp 237–63.

Tripathy S. S., Saxena R. K. & Gupta P. K. 2013. Comparison of Statistical Methods for Outlier Detection in Proficiency Testing Data on Analysis of Lead in Aqueous Solution. American Journal of Theoretical and Applied Statistics 2: 233-242.

Urban, O., Klem, K., Ac, A., Havrankova, K., Holisova, P., Navratil, M., Zitova, M., Kozlova, K., Pokorný, R., Sprtova, M., Tomaskova, I., Spunda, V. & Grace, J. 2012. Impact of clear and cloudy sky conditions on the vertical distribution of photosynthetic CO₂ uptake within spruce canopy. Functional Ecology 26: 46-55.

Vanderwel, M. C., Slot, M., Lichtstein, J. W., Reich, P. B., Kattge, J., Atkin, O. K., Bloomfield, K. J., Tjoelker, M. G. & Kitajima, K. 2015. Global convergence in leaf respiration from estimates of thermal acclimation across time and space. New Phytologist 207: 1026–1037.

Vieira, L., & Piculli, F. J. 2009. Meteorologia e climatologia agrícola. Cidade Gaúcha – Pr: Universidade Estadual de Maringá.

Yuval & Broday, D.M. 2006. High resolution spatial patterns of long-term mean air pollutants concentrations in Haifa Bay area. Atmospheric Environment 40: 3653–3664.

Wang, Z., Wang, C., Wang, B., Wang, X., Li, J., Wu, J., & Liu, L. 2020. Interactive effects of air pollutants and atmospheric moisture stress on aspen growth and photosynthesis along an urban-rural gradient. Environmental Pollution 260: 114076.

White, D.A., Beadle, C.L. & Worledge, D. 2000. Control of transpiration in an irrigated *Eucalyptus globulus* Labill. Plantation. Plant, Cell and Environment 23: 123-134.

8. ANEXO I

Tabela 5: Valores médios da assimilação líquida de carbono (A , $\mu\text{mol}^{-2}\text{s}^{-1}$) observados em indivíduos de *A. graveolens* no período da manhã (desvio padrão, erro padrão, mediana, máximo, mínimo e amplitude) (n=10).

Data	A	Desvio padrão	Erro padrão	Mediana	Máximo	Mínimo	Amplitude
17/10/2018	3,32	1,23	0,41	4,03	4,53	1,06	3,47
22/10/2018	4,42	1,81	0,57	4,14	6,68	1,61	5,07
31/10/2018	1,88	1,01	0,34	2,14	3,37	0,71	2,66
14/11/2018	5,91	1,61	0,54	6,16	7,63	2,57	5,06
28/11/2018	7,33	1,12	0,37	7,26	9,24	6,20	3,03
05/12/2018	9,26	0,78	0,26	8,97	10,45	8,14	2,31
12/12/2018	7,87	1,80	0,60	7,34	10,79	5,83	4,96
19/12/2018	11,70	1,98	0,66	11,24	14,85	8,91	5,94
09/01/2019	8,54	1,35	0,45	8,22	10,62	6,83	3,79
16/01/2019	11,43	1,75	0,62	11,33	13,37	9,51	3,87
18/01/2019	8,98	1,69	0,60	9,46	11,01	6,60	4,41
23/01/2019	10,39	2,09	0,70	10,61	12,68	6,91	5,77
28/01/2019	9,04	0,92	0,32	9,05	10,30	7,89	2,41
30/01/2019	8,84	1,64	0,58	8,68	11,07	6,35	4,72
20/02/2019	9,25	1,48	0,52	9,40	12,07	7,51	4,57
06/03/2019	6,11	2,68	0,85	6,23	9,46	2,57	6,89
20/03/2019	7,82	2,17	0,72	8,79	10,72	5,02	5,70
27/03/2019	7,22	1,80	0,64	6,97	9,76	4,21	5,55

Tabela 6: Valores médios da assimilação líquida de carbono (A , $\mu\text{mol}^{-2}\text{s}^{-1}$) observados em indivíduos de *A. graveolens* no período do meio-dia (desvio padrão, erro padrão, mediana, máximo, mínimo e amplitude) (n=10).

Data	A	Desvio padrão	Erro padrão	Mediana	Máximo	Mínimo	Amplitude
17/10/2018	4,07	1,42	0,47	4,61	5,85	1,51	4,35
22/10/2018	3,23	1,72	0,54	3,32	5,35	1,29	4,06
31/10/2018	1,95	0,22	0,08	1,97	2,33	1,66	0,67
14/11/2018	4,65	1,37	0,46	4,81	7,21	2,82	4,40
28/11/2018	5,40	1,11	0,39	5,46	7,56	3,62	3,94
12/12/2018	6,73	1,07	0,38	6,49	8,32	5,37	2,95
19/12/2018	8,34	2,28	0,76	8,89	11,56	4,20	7,35
09/01/2019	8,32	2,19	0,73	9,28	10,59	4,22	6,37
18/01/2019	8,29	1,88	0,67	8,26	11,57	4,83	6,73
23/01/2019	10,61	1,10	0,37	10,41	13,07	9,44	3,63
28/01/2019	6,58	1,88	0,66	6,65	8,80	3,76	5,03
30/01/2019	6,77	1,40	0,50	6,64	8,88	4,14	4,74
20/02/2019	7,03	1,26	0,45	6,83	9,25	5,27	3,98
06/03/2019	6,07	1,68	0,56	6,25	8,18	3,66	4,53
20/03/2019	8,80	1,34	0,47	8,42	10,91	7,09	3,82
27/03/2019	8,01	1,68	0,59	8,30	10,25	4,89	5,36

Tabela 7: Valores médios da assimilação líquida de carbono (A , $\mu\text{mol}^{-2}\text{s}^{-1}$) observados em indivíduos de *A. graveolens* no período da tarde (desvio padrão, erro padrão, mediana, máximo, mínimo e amplitude) (n=10).

Data	A	Desvio padrão	Erro padrão	Mediana	Máximo	Mínimo	Amplitude
17/10/2018	4,35	0,89	0,28	4,29	5,46	3,03	2,44
31/10/2018	1,63	0,46	0,16	1,46	2,37	1,04	1,34
14/11/2018	4,45	0,85	0,30	4,34	5,78	3,54	2,24
28/11/2018	4,65	0,75	0,27	4,69	5,89	3,59	2,29
12/12/2018	5,60	1,18	0,39	5,66	7,67	4,10	3,57
09/01/2019	6,38	1,46	0,49	6,61	8,17	4,41	3,76
18/01/2019	5,32	0,80	0,28	5,31	6,64	4,23	2,41
18/01/2019*	5,19	0,84	0,28	5,18	6,64	3,55	3,09
28/01/2019	4,39	0,98	0,33	4,03	6,32	3,31	3,02
30/01/2019	5,24	1,23	0,41	4,96	7,20	3,60	3,60
20/02/2019	5,61	1,26	0,42	5,88	7,34	3,95	3,39
06/03/2019	4,62	1,02	0,34	4,75	6,70	3,45	3,25
20/03/2019	6,10	1,56	0,52	6,23	8,11	3,39	4,72
27/03/2019	5,78	1,62	0,57	6,02	7,84	3,38	4,46

Tabela 8: Valores médios de condutância estomática (gs, molm⁻²s⁻¹) observados em indivíduos de *A. graveolens* no período da manhã (desvio padrão, erro padrão, mediana, máximo, mínimo e amplitude) (n=10).

Data	gs	Desvio padrão	Erro padrão	Mediana	Máximo	Mínimo	Amplitude
17/10/2018	0,05	0,02	0,01	0,05	0,08	0,02	0,06
22/10/2018	0,05	0,02	0,01	0,05	0,07	0,02	0,05
31/10/2018	0,02	0,01	0,00	0,02	0,03	0,01	0,03
14/11/2018	0,04	0,01	0,00	0,04	0,06	0,02	0,04
28/11/2018	0,06	0,01	0,00	0,06	0,08	0,05	0,03
05/12/2018	0,06	0,01	0,00	0,06	0,07	0,04	0,03
12/12/2018	0,06	0,03	0,01	0,06	0,10	0,03	0,07
19/12/2018	0,14	0,04	0,01	0,14	0,21	0,09	0,12
09/01/2019	0,07	0,03	0,01	0,06	0,12	0,04	0,08
16/01/2019	0,08	0,03	0,01	0,08	0,13	0,03	0,11
18/01/2019	0,08	0,04	0,01	0,09	0,16	0,04	0,12
23/01/2019	0,09	0,03	0,01	0,08	0,14	0,05	0,09
28/01/2019	0,09	0,02	0,01	0,10	0,11	0,05	0,06
30/01/2019	0,09	0,04	0,01	0,09	0,14	0,04	0,10
20/02/2019	0,10	0,06	0,02	0,09	0,22	0,03	0,20
06/03/2019	0,07	0,05	0,02	0,05	0,15	0,01	0,13
20/03/2019	0,14	0,07	0,02	0,18	0,20	0,03	0,17

Tabela 9: Valores médios de condutância estomática (gs, molm⁻²s⁻¹) observados em indivíduos de *A. graveolens* no período do meio-dia (desvio padrão, erro padrão, mediana, máximo, mínimo e amplitude) (n=10).

Data	gs	Desvio padrão	Erro padrão	Mediana	Máximo	Mínimo	Amplitude
17/10/2018	0,03	0,01	0,00	0,04	0,05	0,01	0,04
22/10/2018	0,04	0,02	0,01	0,04	0,06	0,02	0,04
31/10/2018	0,01	0,00	0,00	0,01	0,02	0,01	0,01
14/11/2018	0,02	0,01	0,00	0,02	0,04	0,01	0,04
28/11/2018	0,04	0,01	0,01	0,04	0,05	0,02	0,04
12/12/2018	0,04	0,01	0,00	0,04	0,05	0,02	0,04
19/12/2018	0,07	0,05	0,02	0,06	0,17	0,02	0,15
09/01/2019	0,06	0,03	0,01	0,07	0,10	0,01	0,08
18/01/2019	0,09	0,03	0,01	0,09	0,13	0,03	0,10
23/01/2019	0,11	0,02	0,01	0,10	0,15	0,08	0,06
28/01/2019	0,05	0,03	0,01	0,04	0,10	0,02	0,08
30/01/2019	0,06	0,02	0,01	0,06	0,08	0,02	0,07
20/02/2019	0,06	0,02	0,01	0,06	0,09	0,03	0,06
06/03/2019	0,05	0,02	0,01	0,06	0,07	0,01	0,07
20/03/2019	0,11	0,05	0,02	0,11	0,18	0,03	0,15
27/03/2019	0,09	0,04	0,01	0,10	0,13	0,02	0,11

Tabela 10: Valores médios de condutância estomática (gs, molm⁻²s⁻¹) observados em indivíduos de *A. graveolens* no período da tarde (desvio padrão, erro padrão, mediana, máximo, mínimo e amplitude) (n=10).

Data	gs	Desvio padrão	Erro padrão	Mediana	Máximo	Mínimo	Amplitude
17/10/2018	0,04	0,01	0,00	0,04	0,05	0,03	0,02
31/10/2018	0,01	0,00	0,00	0,01	0,02	0,00	0,01
14/11/2018	0,02	0,01	0,00	0,02	0,03	0,01	0,02
28/11/2018	0,03	0,01	0,00	0,02	0,03	0,01	0,02
12/12/2018	0,03	0,01	0,00	0,03	0,04	0,01	0,03
09/01/2019	0,02	0,01	0,00	0,02	0,04	0,01	0,03
18/01/2019	0,05	0,03	0,01	0,04	0,11	0,02	0,08
18/01/19*	0,05	0,01	0,00	0,05	0,06	0,04	0,03
28/01/2019	0,02	0,01	0,00	0,01	0,02	0,01	0,01
30/01/2019	0,03	0,01	0,01	0,03	0,06	0,02	0,04
20/02/2019	0,04	0,02	0,01	0,04	0,07	0,02	0,05
06/03/2019	0,04	0,02	0,01	0,03	0,08	0,02	0,05
20/03/2019	0,13	0,05	0,02	0,15	0,21	0,05	0,16
27/03/2019	0,05	0,02	0,01	0,05	0,09	0,02	0,07

Tabela 11: Valores médios de transpiração (E, $\text{mmolm}^{-2}\text{s}^{-1}$) observados em indivíduos de *A. graveolens* no período da manhã (desvio padrão, erro padrão, mediana, máximo, mínimo e amplitude) (n=10).

Data	E	Desvio padrão	Erro padrão	Mediana	Máximo	Mínimo	Amplitude
17/10/2018	1,44	0,56	0,19	1,34	2,21	0,64	1,57
22/10/2018	0,98	0,36	0,12	1,02	1,48	0,46	1,02
31/10/2018	0,52	0,28	0,09	0,52	1,07	0,18	0,88
14/11/2018	1,24	0,65	0,21	1,19	2,59	0,26	2,33
28/11/2018	1,16	0,23	0,07	1,18	1,49	0,76	0,73
05/12/2018	1,75	0,36	0,11	1,71	2,38	1,27	1,12
12/12/2018	1,95	0,79	0,25	1,65	3,07	0,88	2,19
19/12/2018	3,58	1,20	0,38	3,39	6,21	2,21	4,00
09/01/2019	1,84	0,63	0,20	1,64	2,91	1,08	1,83
16/01/2019	2,85	1,69	0,53	2,41	6,08	0,78	5,30
18/01/2019	2,15	0,95	0,30	2,09	3,53	1,00	2,54
23/01/2019	2,43	0,98	0,31	2,35	4,38	1,33	3,05
28/01/2019	2,28	0,56	0,19	2,29	2,99	1,21	1,77
30/01/2019	2,48	0,99	0,31	2,37	3,79	1,01	2,78
20/02/2019	2,94	1,67	0,53	2,61	6,39	0,85	5,54
06/03/2019	1,78	1,13	0,36	1,58	3,36	0,38	2,97
20/03/2019	2,94	1,30	0,41	1,34	2,21	0,64	1,57
27/03/2019	1,92	0,95	0,30	1,64	3,89	0,61	3,29

Tabela 12: Valores médios de transpiração (E , $\text{mmolm}^{-2}\text{s}^{-1}$) observados em indivíduos de *A. graveolens* no período do meio-dia (desvio padrão, erro padrão, mediana, máximo, mínimo e amplitude) ($n=10$).

Data	E	Desvio padrão	Erro padrão	Mediana	Máximo	Mínimo	Amplitude
17/10/2018	1,15	0,43	0,15	1,31	1,60	0,53	1,07
22/10/2018	0,90	0,43	0,14	0,90	1,47	0,39	1,08
31/10/2018	0,47	0,14	0,05	0,42	0,79	0,33	0,46
14/11/2018	0,82	0,54	0,18	0,71	1,71	0,24	1,48
28/11/2018	1,01	0,33	0,11	1,06	1,48	0,44	1,04
12/12/2018	1,68	0,41	0,15	1,58	2,35	1,04	1,31
19/12/2018	1,94	1,17	0,39	1,65	4,23	0,55	3,68
09/01/2019	1,89	0,79	0,28	2,05	2,79	0,55	2,23
18/01/2019	2,71	0,57	0,20	2,61	3,69	2,10	1,59
23/01/2019	3,04	0,64	0,22	2,77	3,92	2,24	1,68
28/01/2019	1,81	0,93	0,30	1,74	2,96	0,64	2,32
30/01/2019	2,12	0,97	0,32	2,38	3,36	0,72	2,65
20/02/2019	2,11	0,87	0,29	1,88	3,62	0,95	2,67
06/03/2019	1,50	0,74	0,25	1,49	2,41	0,32	2,09
20/03/2019	2,43	0,84	0,30	2,43	3,53	0,98	2,55
27/03/2019	2,47	0,97	0,32	2,74	3,56	0,82	2,74

Tabela 13: Valores médios de transpiração (E , $\text{mmolm}^{-2}\text{s}^{-1}$) observados em indivíduos de *A. graveolens* no período da tarde (desvio padrão, erro padrão, mediana, máximo, mínimo e amplitude) ($n=10$).

Data	E	Desvio padrão	Erro padrão	Mediana	Máximo	Mínimo	Amplitude
17/10/2018	1,26	0,27	0,09	1,18	1,64	0,91	0,73
31/10/2018	0,41	0,18	0,06	0,37	0,69	0,16	0,53
14/11/2018	0,78	0,35	0,12	0,82	1,35	0,26	1,09
28/11/2018	0,83	0,24	0,08	0,82	1,12	0,38	0,74
12/12/2018	1,28	0,50	0,17	1,21	1,93	0,57	1,35
09/01/2019	1,23	0,54	0,18	1,28	2,12	0,53	1,59
18/01/2019	1,79	0,91	0,30	1,38	3,21	0,91	2,30
18/01/2019*	1,37	0,26	0,09	1,30	1,78	0,96	0,82
28/01/2019	0,83	0,35	0,12	0,72	1,52	0,50	1,02
30/01/2019	1,57	0,93	0,31	1,35	3,65	0,67	2,98
20/02/2019	0,92	0,42	0,14	0,90	1,60	0,40	1,21
06/03/2019	1,05	0,44	0,15	0,88	2,13	0,70	1,43
20/03/2019	2,49	0,87	0,29	2,67	3,70	1,10	2,60
27/03/2019	1,28	0,52	0,17	1,27	2,10	0,45	1,65

9. ANEXO II

Tabela 14: Valores médios de assimilação líquida de carbono (A , $\mu\text{mol}^{-2} \text{s}^{-1}$) observados entre os dias de medições em indivíduos de *A. graveolens*. Déficit de pressão de vapor (DPV, kPa), radiação fotossinteticamente ativa (RFA, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), umidade relativa do solo (URs, %), temperatura (T , °C), umidade relativa do ar (URar, %) e velocidade do vento (VV, m/s) aferidos próximo ao local do experimento.

Período	Data	A	DPV	RFA	URs	T	URar	VV
Manhã	31/10/2018	2,1	2,5	1650	69	24,6	76	1,3
	19/12/2018	12,2	2,2	730	62	25,8	71	1,3
Meio dia	31/10/2018	2,2	4,0	1950	66	30,5	49	4,2
	23/01/2019	10,6	2,6	900	52	28,3	63	1,7
Tarde	31/10/2018	1,7	3,7	1300	63	31,4	43	5,2
	09/01/2019	6,9	4,7	1960	47	32,6	31	2,0

Tabela 15: Valores médios de assimilação líquida de carbono (A , $\mu\text{mol}^{-2} \text{s}^{-1}$) observados entre os períodos de medições em indivíduos de *A. graveolens*. Déficit de pressão de vapor (DPV, kPa), radiação fotossinteticamente ativa (RFA, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), umidade relativa do solo (URs, %), temperatura (T , °C), umidade relativa do ar (URar, %) e velocidade do vento (VV, m/s) aferidos próximo ao local do experimento.

Período	Data	A	DPV	RFA	URs	T	URar	VV
Manhã	28/11/2018	7,6	1,8	1000	67	20,4	75	3,1
Meio dia		5,3	2,2	1950	64	22,9	64	2,3
Tarde		4,7	3,1	1950	63	27,8	45	2,6
Manhã	12/12/2018	8,3	2,9	1950	58	27,5	48	1,9
Tarde		6,2	4,4	1990	53	31,6	31	2,2
Manhã	19/12/2018	12,2	2,2	730	62	25,8	71	1,3
Meio dia		9,0	2,6	865	60	28,5	60	1,4
Manhã	28/01/2019	9,0	2,4	1850	56	27,1	65	0,7
Tarde		4,8	4,5	1990	47	32,3	27	2,2
Manhã	30/01/2019	8,8	2,7	1550	57	27,2	60	1,4
Tarde		4,9	3,9	200	46	31,3	42	1,3
Manhã	20/01/2019	9,2	2,4	1850	42	24,7	68	2,2
Tarde		5,6	2,1	300	36	28,7	51	3,4

Tabela 16: Valores médios de condutância estomática (gs, molm⁻² s⁻¹) observados entre os dias de medições em indivíduos de *A. graveolens*. Déficit de pressão de vapor (DPV, kPa), radiação fotossinteticamente ativa (RFA, μmol m⁻² s⁻¹), umidade relativa do solo (URs, %), temperatura (T, °C), umidade relativa do ar (URar, %) e velocidade do vento (VV, m/s) aferidos próximo ao local do experimento.

Período	Data	gs	DPV	RFA	URs	T	URar	VV
Manhã	31/10/2018	0,02	2,5	1650	69	24,6	76	1,3
	20/03/2019	0,15	1,9	430	49	23,1	78	1,7
Meio dia	31/10/2018	0,01	4,0	1950	66	30,5	49	4,2
	20/03/2019	0,12	2,0	1000	44	24,7	69	2,2
Tarde	31/10/2018	0,01	3,7	1300	63	31,4	43	5,2
	20/03/2019	0,12	1,8	270	40	25,2	70	2,6

Tabela 17: Valores médios de condutância estomática (gs, molm⁻² s⁻¹) observados entre os períodos de medições em indivíduos de *A. graveolens*. Déficit de pressão de vapor (DPV, kPa), radiação fotossinteticamente ativa (RFA, μmol m⁻² s⁻¹), umidade relativa do solo (URs, %), temperatura (T, °C), umidade relativa do ar (URar, %) e velocidade do vento (VV, m/s) aferidos próximo ao local do experimento.

Período	Data	gs	DPV	RFA	URs	T	URar	VV
Manhã	28/11/2018	0,06	1,8	1000	67	20,4	75	3,1
Tarde		0,02	3,1	1950	63	27,8	45	2,6
Manhã	12/12/2018	0,06	2,9	1950	58	27,5	48	1,9
Tarde		0,03	4,4	1990	53	31,6	31	2,2
Manhã	19/12/2018	0,16	2,2	730	62	25,8	71	1,3
Meio dia		0,09	2,6	865	60	28,5	60	1,4
Manhã	09/01/2019	0,07	2,5	1900	57	26,0	71	1,8
Tarde		0,03	4,7	1960	47	32,6	31	2,0
Manhã	28/01/2019	0,08	2,4	1850	56	27,1	65	0,7
Meio dia		0,06	3,1	1990	50	29,7	40	3,5
Tarde		0,02	4,5	1990	47	32,3	27	2,2
Manhã	30/01/2019	0,09	2,7	1550	57	27,2	60	1,4
Tarde		0,03	3,9	200	46	31,3	42	1,3
Manhã	20/02/2019	0,12	2,4	1850	42	24,7	68	2,2
Tarde		0,04	2,1	300	36	28,7	51	3,4

Tabela 18: Valores médios de transpiração (E , $\text{mmol}^{-2} \text{s}^{-1}$) observados entre os dias de medições em indivíduos de *A. graveolens*. Déficit de pressão de vapor (DPV, kPa), radiação fotossinteticamente ativa (RFA, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), umidade relativa do solo (URs, %), temperatura (T , $^{\circ}\text{C}$), umidade relativa do ar (URar, %) e velocidade do vento (VV, m/s) aferidos próximo ao local do experimento.

Período	Data	E	DPV	RFA	URs	T	URar	VV
Manhã	31/10/2018	0,5	2,5	1650	69	24,6	76	1,3
	20/03/2019	2,9	1,9	430	49	23,1	78	1,7
Meio dia	31/10/2018	0,5	4,0	1950	66	30,5	49	4,2
	23/01/2019	3,3	2,6	900	52	28,3	63	1,7
Tarde	31/10/2018	0,4	3,7	1300	63	31,4	43	5,2
	20/03/2019	2,3	1,8	270	40	25,2	70	2,6

Tabela 19: Valores médios de transpiração (E , $\text{mmol}^{-2} \text{s}^{-1}$) observados entre os períodos de medições em indivíduos de *A. graveolens*. Déficit de pressão de vapor (DPV, kPa), radiação fotossinteticamente ativa (RFA, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), umidade relativa do solo (URs, %), temperatura (T , $^{\circ}\text{C}$), umidade relativa do ar (URar, %) e velocidade do vento (VV, m/s) aferidos próximo ao local do experimento.

Período	Data	E	DPV	RFA	URs	T	URar	VV
Manhã	19/12/2018	3,6	2,2	730	62	25,8	71	1,3
Meio dia		2,3	2,6	865	60	28,5	60	1,4
Manhã	28/01/2019	2,3	2,4	1850	56	27,1	65	0,7
Tarde		0,9	4,5	1990	47	32,3	27	2,2
Manhã	20/02/2019	2,9	2,4	1850	42	24,7	68	2,2
Meio dia		2,3	2,9	1945	41	28,3	55	3,7
Tarde		0,9	2,1	300	36	28,7	51	3,4

10. ANEXO III

Tabela 20: Valores de assimilação líquida de carbono (A, $\mu\text{mol}^{-2} \text{s}^{-1}$) em indivíduos de *A. graveolens* durante experimento de fumigação, sendo AF + O₃ (câmaras contendo ar filtrado e concentração de 150 ppb de O₃) e AF (câmaras contendo apenas ar filtrado), desvio padrão e erro padrão (n=4).

Data	Tratamentos	A	Desvio padrão	Erro padrão
11/07/2019	AF + O ₃	4,47	4,74	2,37
	AF	8,50	5,57	2,79
13/07/2019	AF + O ₃	1,99	1,18	0,59
	AF	2,60	0,70	0,35
15/07/2019	AF + O ₃	4,73	1,18	0,59
	AF	5,47	1,28	0,64
17/07/2019	AF + O ₃	1,40	1,13	0,56
	AF	2,42	0,94	0,47
19/07/2019	AF + O ₃	3,12	2,06	1,03
	AF	5,17	2,11	1,06
20/07/2019	AF + O ₃	0,66	0,70	0,35
	AF	3,19	1,96	0,98

Tabela 21: Valores de condutância estomática (gs, $\text{molm}^{-2} \text{s}^{-1}$) em indivíduos de *A. graveolens* durante experimento de fumigação, sendo AF + O₃ (câmaras contendo ar filtrado e concentração de 150 ppb de O₃) e AF (câmaras contendo apenas ar filtrado), desvio padrão e erro padrão (n=4).

Data	Tratamentos	gs	Desvio padrão	Erro padrão
11/07/2019	AF + O ₃	0,08	0,07	0,03
	AF	0,09	0,04	0,02
13/07/2019	AF + O ₃	0,03	0,02	0,01
	AF	0,04	0,01	0,00
15/07/2019	AF + O ₃	0,11	0,05	0,03
	AF	0,11	0,10	0,05
17/07/2019	AF + O ₃	0,03	0,03	0,01
	AF	0,03	0,01	0,00
19/07/2019	AF + O ₃	0,02	0,01	0,01
	AF	0,05	0,02	0,01
20/07/2019	AF + O ₃	0,01	0,01	0,00
	AF	0,05	0,03	0,01

Tabela 22: Valores de transpiração (E , $\text{mmol}^{-2} \text{s}^{-1}$) em indivíduos de *A. graveolens* durante experimento de fumigação, sendo AF + O₃ (câmaras contendo ar filtrado e concentração de 150 ppb de O₃) e AF (câmaras contendo apenas ar filtrado), desvio padrão e erro padrão (n=4).

	Tratamentos	E	Desvio padrão	Erro padrão
11/07/2019	AF + O ₃	1,01	0,67	0,34
	AF	1,16	0,50	0,25
13/07/2019	AF + O ₃	0,84	0,40	0,20
	AF	0,04	0,19	0,10
15/07/2019	AF + O ₃	1,82	0,67	0,33
	AF	1,64	1,22	0,61
17/07/2019	AF + O ₃	0,54	0,44	0,22
	AF	0,49	0,16	0,08
19/07/2019	AF + O ₃	0,36	0,24	0,12
	AF	1,02	0,42	0,21
20/07/2019	AF + O ₃	0,23	0,13	0,06
	AF	0,88	0,39	0,19

Tabela 23: Quantidade de folhas de indivíduos de *A. graveolens* que apresentaram sintomas foliares visíveis induzidos pelo ozônio no tratamento AF + O₃ (câmaras contendo ar filtrado e concentração de 150 ppb de O₃) (n=4).

Data	Planta 1	Planta 5	Planta 7	Planta 19
11/07/2019	0	0	0	0
12/07/2019	0	0	0	0
13/07/2019	0	0	0	0
14/07/2019	0	0	0	0
15/07/2019	0	0	0	1
16/07/2019	0	0	0	0
17/07/2019	1	0	0	1
18/07/2019	0	0	0	0
19/07/2019	3	2	2	3
20/07/2019	4	0	0	4

Tabela 24: Porcentagem da queda de folíolos em *A. graveolens* durante experimento de fumigação, sendo AF + O₃ (câmaras contendo ar filtrado e concentração de 150 ppb de O₃) e AF (câmaras contendo apenas ar filtrado) (n=4).

	Tratamentos	Queda de folíolos (%)
11/07/2019	AF + O ₃	0,0
	AF	0,0
13/07/2019	AF + O ₃	1,5
	AF	2,5
15/07/2019	AF + O ₃	11,0
	AF	5,3
17/07/2019	AF + O ₃	19,5
	AF	8,5
19/07/2019	AF + O ₃	29,3
	AF	11,5
20/07/2019	AF + O ₃	36,5
	AF	15,0