

O Papel do Ácido Ascórbico na Defesa de *Ipomoea nil* (L.) Roth cv. Scarlet O'Hara sob o Efeito da Poluição Aérea

Maurício Lamano Ferreira¹, Jéssica Bordotti Nobre², Silvia Ribeiro de Souza³ e Marisa Domingos³

Introdução

O crescimento desordenado da cidade de São Paulo e o aumento da frota automotiva têm ocasionado muitos problemas ambientais. Entre estes, a contaminação aérea merece um destaque especial, devido à capacidade de determinados poluentes como o ozônio (O_3) de intensificar a formação de espécies ativas de oxigênio (EAO) no apoplasto e simplasto, as quais são muito tóxicas e danificam biomoléculas vitais [1]. O nível de toxicidade depende da eficiência do sistema de defesa antioxidativo, que é composto por substâncias capazes de capturar e neutralizar as EAO, como por exemplo, o ácido ascórbico (AA) [4]. Sendo assim, objetivou-se nesse estudo determinar o grau de sensibilidade de *I. nil* cv. Scarlet O'Hara ao O_3 , determinando-se a relação entre o conteúdo de AA (indicador de defesa) e o surgimento de danos foliares visíveis (consequências dos efeitos oxidativos) em folhas de plantas de *I. nil* expostas em local de São Paulo contaminado por poluentes atmosféricos, especialmente ozônio, e em câmaras de fumigação sob dose conhecida do mesmo. Os resultados contribuirão para definir o potencial bioindicador dessa cultivar de *I. nil*.

Material e métodos

A. Exposição em campo

Cinquenta e uma plantas de *Ipomoea nil* foram expostas à poluição aérea com altos níveis de O_3 , no parque do Ibirapuera/SP, com irrigação garantida por capilaridade e mantidas em viveiros com sombreamento de 50%, e em um ambiente referência com ar filtrado e climatizado (casa de vegetação), durante 4 semanas, no período de 26/fevereiro a 27/março/2006.

B. Exposição em câmaras de fumigação

Lotes distintos contendo três plantas de *I. nil* foram expostos simultaneamente em duas câmaras de fumigação por oito dias, sendo que em uma delas inseriu-se ar filtrado e na outra ar filtrado enriquecido com 80 ppb de ozônio por 3 horas. O ozônio foi monitorado continuamente e temperatura e radiação foram tomadas três vezes ao dia.

C. Análise de danos foliares e conteúdo de AA

Semanalmente, a cada intervalo de três ou quatro dias, em campo, e diariamente, nas câmaras, as 5^a, 6^a e 7^a folhas mais velhas do ramo principal de três plantas de cada tratamento foram analisadas quanto à porcentagem de área foliar afetada por sintomas visíveis com base no procedimento proposto pela VDI [8] para *Nicotiana tabacum* Bel W3.

Para determinação de ácido ascórbico (AA) nas mesmas folhas, retirou-se 0,5 g do limbo foliar, e o restante do órgão teve sua massa fresca e seca pesada, para se obter a concentração do antioxidante em base de matéria seca. O extrato foi centrifugado a 18.000 rpm por 30 minutos. O sobrenadante foi analisado em espectrofotômetro à 520 nm [3].

Os resultados do experimento de campo foram comparados estatisticamente através de análise de variância com dois fatores (local e tempo de exposição). Análises de correlação de Pearson foram realizadas para determinar quais fatores do ambiente (concentração de ozônio, temperatura e umidade relativa) poderiam ter influenciado na resposta de AA e danos foliares nas plantas. Os resultados do experimento de fumigação foram comparados estatisticamente através de teste t.

Resultados

O experimento de campo mostrou que a concentração média de AA foi significativamente menor no Ibirapuera do que naquelas expostas na casa de vegetação ($P < 0,001$), além de uma diminuição em seus níveis ao longo da exposição em ambos os ambientes (Fig. 1). Entre os fatores ambientais com poder oxidativo e que poderiam explicar o consumo de AA nas plantas está o ozônio, cujas concentrações (máximas horárias no período de exposição entre 22 e 86 ppb; média = 50 ppb) foram maiores do que na casa de vegetação (< 5 ppb). A concentração de AA nas plantas do Ibirapuera não mostrou relação com os níveis de ozônio, porém com a umidade relativa esta foi significativa ($R = 0,666$; $P = 0,005$). Os danos foliares visíveis nas plantas de *I. nil* foram caracterizados como pontos cloróticos esbranquiçados entre as nervuras. Nas plantas do

1Aluno de mestrado (bolsista CNPq) do Instituto de Botânica de São Paulo. Av.Miguel Stefano, 3687, São Paulo, SP, CEP 04301-012. E-mail: mauecologia@yahoo.com.br

2. Aluna de Iniciação Científica (bolsista PIBIC/CNPq) do Instituto de Botânica de São Paulo. Av.Miguel Stefano, 3687, São Paulo, SP, CEP 04301-012.

3. Pesquisadora do Instituto de Botânica de São Paulo, Seção de Ecologia. Av.Miguel Stefano, 3687, São Paulo, SP, CEP 04301-012.

4. Pesquisadora do Instituto de Botânica de São Paulo, Seção de Ecologia. Av.Miguel Stefano, 3687, São Paulo, SP, CEP 04301-012. E-mail: marisa.domingos@pesquisador.cnpq.br

Apoio financeiro: FAPESP e CNPq.

Ibirapuera ocorreram de modo mais expressivo na última semana de exposição nas três folhas analisadas (Fig. 2A-C), sendo a 6ª folha a mais afetada (60% na penúltima semana; Fig. 2B). No experimento de fumigação a concentração de AA nas folhas 5, 6 e 7 também foi menor nas plantas mantidas na câmara enriquecida com ozônio quando comparadas com as plantas submetidas ao ar filtrado (Tab. 1). Os danos foliares visíveis apareceram como clorose extensa a partir do 3º dia de fumigação, evoluindo para uma faixa necrótica entre as nervuras. A maior porcentagem média de danos (52 %) foi detectada na folha 7 (Tab. 1).

Discussão

Os resultados obtidos no experimento de campo foram confirmados com o experimento de fumigação. Em ambos os experimentos, a concentração de AA nas plantas foi menor naquelas submetidas ao ozônio. No experimento de campo esta concentração diminuiu ao longo do período de exposição, mostrando o consumo deste antioxidante pela planta como uma forma de prevenir a ocorrência de distúrbios celulares de caráter oxidativo [1,4]. Contudo, esta proteção foi limitada, uma vez que retardou o surgimento dos danos visíveis que passaram a ocorrer quando os níveis de AA nas folhas eram menores. No experimento de fumigação o surgimento de danos nas plantas submetidas ao ozônio foi precoce e mais intenso quando comparado ao de campo, atingindo o valor de 52% de área foliar afetada em apenas oito dias. É provável que na fumigação tenha ocorrido uma exaustão oxidativa na planta [6]. As plantas da fumigação estiveram expostas por um período mais curto, porém sob concentração de poluente mais alta, caracterizando uma exposição aguda ao ozônio. Foram 80 ppb de ozônio por 3 horas diárias, durante 8 dias. As plantas do Ibirapuera permaneceram expostas por mais tempo (28 dias), porém sob concentrações diárias mais amenas, o que caracteriza uma exposição crônica [2]. Apenas um dia a máxima horária foi de 82 ppb, durante seis dias a máxima horária ficou entre 60-80 ppb, por 14 dias entre 40-60 ppb e sete dias entre 20-40 ppb. Assim, a diferença no tipo de exposição, pode ter ocasionado um maior potencial oxidativo pelo ozônio no experimento de fumigação o que pode explicar em parte a ocorrência de danos foliares mais intensos. Outro aspecto a ser considerado é o de que as plantas mantidas no ambiente natural estiveram expostas a múltiplos fatores ambientais, além do ozônio, o que não ocorreu no experimento em câmaras de fumigação. Entre eles,

destacam-se a temperatura e umidade relativa, que controlam a abertura e fechamento de estômatos e, conseqüentemente, o fluxo de ozônio para o interior da folha [5,7]. No entanto, a menor intensidade e lentidão dos efeitos no ambiente, se comparados com os resultados da câmara, sugerem que há também a atuação de fatores climáticos que minimizam a presença do ozônio, como precipitação, menor temperatura, sinergismo devido à presença de outros poluentes, entre outros.

Os resultados do presente estudo mostram que a dose efetiva de ozônio recebida pelas plantas em campo deve ter sido menor do que a de exposição na câmara, minimizando potencialmente o estresse oxidativo desse poluente.

Agradecimentos

À FAPESP pelo auxílio financeiro à pesquisa (processos 02/04751-6 e 05/51169-9) e ao CNPq por bolsas concedidas aos dois primeiros autores.

Referências

- [1] BRAY, E. A.; BAILEY-SERRES & WERETILNYK, E. 2000. Responses to abiotic stress. In: BUCHANAM, B.B.; GRUISSSEN, W. & JONES, R.L. (Eds.). *Biochemistry & Molecular biology of Plants*. American Society of Plant Physiology (USA), New York, p. 1158 – 1203.
- [2] DOMINGOS, M.; BOUROTTE, C.; KLUMPP, A.; KLUMPP, G. & FORTI, M.C. 2002. Impactos de poluição atmosférica sobre remanescentes florestais. In BICUDO, D.C., FORTI, M.C. & BICUDO, C.E.M., orgs. *Parque Estadual das fontes do Ipiranga (PEFI): unidade de conservação ameaçada pela urbanização de São Paulo*. Editora Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo, São Paulo, p. 221-249.
- [3] KELLER, T. & SCHWAGER, H. 1977. Air pollution and ascorbate. *Eur. J. For. Path.*, 7: 338-350.
- [4] KRUPA, S.V. & MANNING, W.J. 1988. Atmospheric ozone: formation and effects on vegetation. *Environmental Pollution*, 50: 101-137.
- [5] MUSSELMAN, R.C.; MINNICK, T.J. 2000. Nocturnal stomatal conductance and ambient air quality standards for ozone. *Atmospheric Environment*, 34: 719-733.
- [6] SHARMA, Y.K.; DAVIS, K.R. 1997. The effects of ozone on antioxidant responses in plants. *Free Radical Biology and Medicine*, 3: 480-488.
- [7] SHERIFF, D.W. 1979. Stomatal aperture and the sensing of the environment by guard cells. *Plant, Cell and Environment*, 2:15-22
- [8] VDI - Verein Deutscher Ingenieure. 2003. *Biological measuring techniques for the determination and evaluation of effects of air pollutants on plants (bioindication). Determination and evaluation of the phytotoxic effects of photooxidants Method of the standardized tobacco exposure*. VDI 3957/6. VDI/DIN Handbuch Reinhaltung der Luft, Vol. 1a, Beuth, Berlin.

Tabela 1. Porcentagem média e desvio padrão de concentração de ácido ascórbico (AA) e danos visíveis nas folhas 5, 6 e 7 de *Ipomoea nil* submetidas a dois tratamentos: câmara com ar filtrado (AF) e câmara com ar filtrado mais 80 ppb de ozônio (AF+80).

Folhas	AA	Danos Visíveis
AF/F5	4,17 ± 1,22	0
AF/F6	4,77 ± 1,148	0
AF/F7	4,05 ± 0,945	0
AF+80/F5	2,83 ± 0,136	32,5 ± 14,1
AF+80/F6	2,22 ± 0,733	22,5 ± 3,5
AF+80/F7	3,76 ± 0,811	52,5 ± 14,1

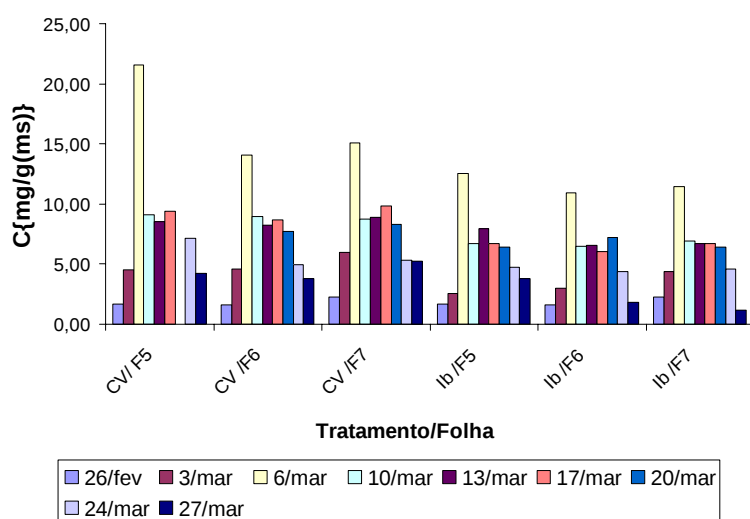


Figura 1. Concentração média de ácido ascórbico (AA) nas folhas 5, 6 e 7 em casa de vegetação (CV) e Ibirapuera (Ib) em cada dia de análise.

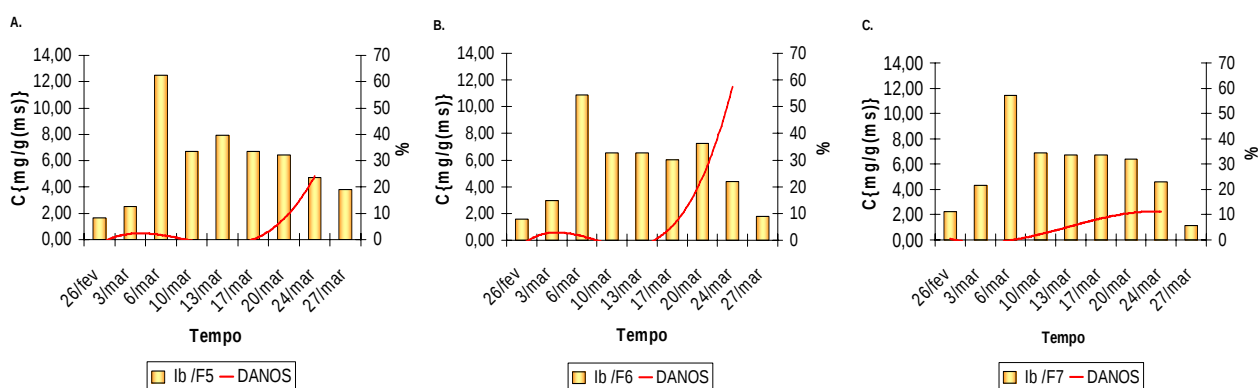


Figura 2. Concentração média de ácido ascórbico (AA) em folhas de plantas expostas no Parque do Ibirapuera e evolução dos danos foliares visíveis ao longo da exposição.;A: folha 5; B: folha 6; C: folha 7.