

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS

Monografia de Trabalho de Conclusão de Curso

**Influência da estrutura filogenética das
comunidades sobre respostas das plantas à
poluição por ozônio**

Rafaela Pestana Leques Tonial

Porto Alegre, dezembro de 2011

Influência da estrutura filogenética das comunidades sobre respostas das plantas à poluição por ozônio

Rafaela Pestana Leques Tonial

Monografia apresentada como
Trabalho de Conclusão de Curso,
pré-requisito para o recebimento de
grau de Bacharel em Ciências
Biológicas, do Instituto de
Biotecnologia, da Universidade Federal
do Rio Grande do Sul.

Orientador: Prof. Dr. Leandro da
Silva Duarte
Colaborador: Dr. Armando M. Divan
Júnior

Comissão Examinadora

Prof. Dr. Andreas Kindel
Departamento de Ecologia/UFRGS
Prof.^a Dr.^a Lúcia R. Dillenburg
Departamento de Botânica/UFRGS

Apresentação

Monografia apresentada como Trabalho de Conclusão de Curso, pré-requisito para o recebimento de grau de Bacharel em Ciências Biológicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Essa monografia é apresentada na forma de artigo, segundo as normas exigidas pela revista *Applied Vegetation Science* para o envio de manuscritos com exceção do idioma.

Influência da estrutura filogenética das comunidades sobre respostas das plantas à poluição por ozônio

Rafaela P. L. Tonial, Leandro da S. Duarte e Armando M. Divan Júnior

Resumo

Questão: A resposta da vegetação ao ozônio depende das relações filogenéticas entre as espécies que compõem as comunidades de plantas?

Local: Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

Métodos: Em um experimento sub-dividido em dois ciclos analisamos a influência da estrutura filogenética de comunidades experimentais de plantas da família Myrtaceae sobre a resposta à exposição ao ozônio em câmaras de topo aberto. Em cada ciclo foram montadas nove comunidades classificadas em três categorias de agrupamento filogenético, caracterizado a partir do Índice de Táxon mais Próximo (NTI): três comunidades filogeneticamente agrupadas ($NTI > 0$), três comunidades filogeneticamente aleatórias ($NTI \cong 0$) e três comunidades filogeneticamente superdispersas ($NTI < 0$) e expostas durante três meses em câmaras de topo aberto com tratamento com ozônio e controle. No primeiro ciclo, as comunidades agrupadas foram expostas em um par de câmaras (tratamento com e sem ozônio), as aleatórias em outro par e as superdispersas em um terceiro. O delineamento experimental do segundo ciclo foi alterado, expondo as três estruturas filogenéticas juntas em cada par de câmaras. Após foram analisados parâmetros ecofisiológicos.

Resultados: O primeiro ciclo de exposição mostrou influência da estrutura filogenética e do tratamento com e sem ozônio como fatores independentes em diversos parâmetros analisados. Além disso, foram observadas interações entre os dois fatores em alguns parâmetros, podendo essa resposta ser dependente do delineamento experimental realizado. O segundo ciclo de exposição apresentou respostas ecofisiológicas influenciadas apenas por fatores independentes entre si, com a exposição ao ozônio e a influência da estrutura filogenética atuando separadamente.

Conclusão: A influência da estrutura filogenética das comunidades altera parâmetros ecofisiológicos dos indivíduos que as compõem. Mas é necessário continuar o estudo para verificar se essa pode atuar juntamente com outros fatores ambientais, como a exposição ao ozônio, na alteração da resposta das plantas seguindo o modelo experimental realizado no segundo ciclo.

Rafaela P. L. Tonial (autor para contato, rafaelatonial@gmail.com) e **Leandro da S. Duarte** (leandro.duarte@ufrgs.br): Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, Instituto de Biotecnologia - Centro de Ecologia, Prédio 43411 / 220, Av. Bento Gonçalves, 9500, Porto Alegre - RS, Brasil, CEP 91501-970.

38 **Armando M. Divan Júnior** (00006745@ufrgs.br): Universidade Federal do Rio
39 Grande do Sul – UFRGS, Instituto de Biociências - Centro de Ecologia, Prédio 43411 /
40 113, Av. Bento Gonçalves, 9500, Porto Alegre - RS, Brasil, CEP 91501-970.

41 **Palavras Chaves:** estrutura filogenética; ozônio; Myrtaceae.

42 **Nomeclatura:** <http://tnrs.iplantcollaborative.org/>

43 **Abreviações:** AG= comunidade filogeneticamente agrupada; AL= comunidade
44 filogeneticamente aleatória; SD=comunidade filogeneticamente superdispersa;
45 CV=coeficiente de variação.

46 **Introdução**

47 O ozônio troposférico (O₃) é um dos poluentes mais importantes na atualidade,
48 sendo um potente oxidante responsável pelo início de todas as cadeias de reações de
49 oxidação primárias que ocorrem na atmosfera natural. Seus efeitos negativos são
50 observados em tecidos de plantas e animais, representando uma potencial ameaça
51 para populações urbanas, produções agrícolas e para a sobrevivência de espécies
52 nativas de frágeis ecossistemas naturais (Blomberg et. al. 1999; Biswas et. al. 2008). O
53 interesse nesse poluente e em seus efeitos tóxicos em seres vivos tem aumentado nas
54 últimas décadas, como resultado do aumento de sua concentração na atmosfera
55 (Altshuller 1987).

56 Embora o ozônio ocorra principalmente em áreas urbanas e industriais, sua
57 presença pode se estender sobre áreas suburbanas e rurais (Runeckles & Krupa 1994).
58 Desta forma, ele é o poluente do ar que atualmente causa mais danos à vegetação em
59 escala global em comparação a todos os demais poluentes atmosféricos somados
60 (Elägoz & Manning 2005; Bassin et al. 2007). O O₃ penetra nas plantas através de
61 estômatos localizados na superfície foliar, e uma vez dentro das folhas interfere em
62 processos metabólicos, fisiológicos e celulares. Seus efeitos negativos residem no fato
63 de esse ser um potente agente oxidante, levando à produção e acúmulo de espécies
64 reativas de oxigênio (ERO).

65 O ozônio pode alterar a composição e a diversidade das comunidades vegetais
66 (Barbo et al. 1998; Davison & Barnes 1998; Ashmore 2005). Segundo Williams et al.
67 (2009), agentes estressantes (tais como poluentes atmosféricos) em ambientes
68 naturais próximos a áreas urbanas, poderiam selecionar espécies com características
69 ecológicas que conferem resistência a tais agentes, além de promover o agrupamento
70 filogenético nas comunidades vegetais. Além disso, processos evolutivos
71 provavelmente influenciam na estruturação das comunidades e não devem ser
72 ignorados, pois os atributos das comunidades não são independentes das relações
73 filogenéticas entre as mesmas (Westoby et al. 1995; Silvertown et al. 2006; Cavender-
74 Bares et al. 2009), uma vez que as relações filogenéticas entre as espécies que
75 constituem uma comunidade influenciam na forma como as mesmas respondem às
76 condições ambientais (e.g. Webb et al. 2002).

77 Neste trabalho testamos a hipótese de que as respostas de comunidades
78 vegetais ao ozônio dependem das relações filogenéticas entre as espécies que
79 compõem as comunidades de plantas. Para tanto, expomos comunidades
80 experimentais formadas por plantas da família Myrtaceae a esse poluente. Essa família
81 é, no estado do Rio Grande do Sul, a que apresenta o maior número de representantes
82 na flora arbórea (Sobral 2003). Além de um número considerável de espécies, a família
83 Myrtaceae também se destaca pela grande densidade em que ocorre nas diferentes
84 formações florestais (Klein 1984; Jarenkow & Baptista 1987; Jarenkow 1994; Souza
85 2001; Jurinitz 2002).

86 Esse trabalho apresenta como objetivo principal avaliar a influência da estrutura
87 filogenética de comunidades experimentais de plantas lenhosas jovens de espécies da
88 família Myrtaceae sobre respostas ecofisiológicas e bioquímicas das plantas à
89 exposição ao ozônio. Para tanto, foram avaliadas respostas fisiológicas e bioquímicas

90 das plantas jovens experimentalmente distribuídas em comunidades com diferentes
91 estruturas filogenéticas (agrupadas, aleatórias e superdispersas) e submetidas a
92 estresse por concentrações sub-letais de ozônio.

93 **Material e Métodos**

94 *Composição das comunidades e condições de crescimento*

95 Para a montagem das comunidades experimentais foram utilizadas mudas de
96 espécies da família Myrtaceae disponíveis no Jardim Botânico da Fundação Zoobotânica
97 do Rio Grande do Sul (JB/FZBRS). As mudas foram selecionadas de maneira que os
98 indivíduos de cada espécie apresentassem uma altura uniforme e aparência saudável.
99 As espécies disponíveis no viveiro foram distribuídas a priori em grupos de cinco
100 espécies através de sorteio. Para cada comunidade experimental assim formada, foi
101 computado um índice de agrupamento filogenético visando selecionar quais conjuntos
102 de espécies seriam utilizados no experimento. A hipótese filogenética para a família
103 Myrtaceae utilizada neste estudo foi a proposta por Lucas et al. (2007). Optou-se por
104 utilizar o índice de táxon mais próximo (NTI), calculado a partir da distância média
105 entre cada espécie presente numa comunidade e seu "vizinho" filogenético mais
106 próximo (Webb et al. 2002). Comunidades com valores de NTI significativamente
107 maiores do que zero são consideradas como filogeneticamente agrupadas, enquanto
108 comunidades com valores de NTI significativamente menores do que zero são
109 consideradas super-dispersas. Valores de NTI estatisticamente equivalentes a zero
110 indicam aleatoriedade na estrutura filogenética das comunidades. Este índice foi
111 escolhido porque captura relações filogenéticas mais terminais ao longo da árvore
112 filogenética.

113 Após calcular valores de NTI para diversas combinações de espécies de
114 Myrtaceae, foram selecionadas comunidades experimentais que representassem
115 padrões significativamente diferentes de estrutura filogenética. Cada comunidade
116 experimental foi composta por cinco indivíduos de espécies diferentes (Fig. 1). Assim,
117 nove comunidades diferentes foram selecionadas neste experimento, divididas em
118 três categorias definidas pelo padrão de agrupamento filogenético: três comunidades
119 filogeneticamente agrupadas (AG), três comunidades filogeneticamente aleatórias (AL),
120 e três comunidades filogeneticamente superdispersas (SD). Os valores médios de NTI
121 obtidos para cada padrão filogenético foram, respectivamente: $1.906, \pm 0.111$, $0.009,$
122 ± 0.114 e -2.241 ± 0.056 . A Figura 2 apresenta a árvore filogenética das espécies
123 selecionadas.

124 Cada comunidade foi montada em um vaso de 20 L, contendo como substrato
125 de cultivo areia e solo orgânico comercial (terra preta) na proporção, em volume, de
126 2:1 respectivamente. Após o transplante das mudas para as comunidades
127 experimentais, as mesmas passaram por um período de adaptação de dois meses
128 expostas ao ar livre sobre uma bancada na casa de cultivo do Centro de Ecologia,
129 UFRGS. Desta forma, evitou-se que estresses associados ao estabelecimento inicial das
130 mudas interferissem nas respostas das plantas ao ozônio. A umidade do solo foi
131 controlada, irrigando cada vaso quando necessário. Um dia antes da exposição ao
132 ozônio os vasos foram adubados com solução de 300 ml de fertilizante Nutriverde
133 (Vitaplan).

134 *Exposição ao ozônio*

135 Câmaras de topo aberto foram usadas para a exposição das comunidades ao
136 ozônio de acordo com Clebsch et. al. (2009). O gás foi gerado a partir de ozonizadores
137 de descarga elétrica (gerador de ozônio GHR150B, OZ Engenharia, Porto Alegre, Brasil)

138 e adicionado ao ar ambiente. As comunidades-controle foram mantidas em câmaras
139 idênticas, nas quais somente ar ambiente foi introduzido. A concentração de ozônio
140 nas câmaras foi monitorada uma vez por semana, segundo metodologia descrita por
141 Clebsch et. al. (2009).

142 As mudas, distribuídas nas comunidades (vasos), foram submetidas aos
143 tratamentos sem e com adição de ozônio ao ar ambiente, dentro de seis câmaras de
144 topo aberto instaladas ao lado do Centro de Ecologia da UFRGS. Em cada par de
145 câmaras (câmara com ozônio e câmara controle) foram expostas três comunidades.
146 Durante o primeiro ciclo de exposição, cada par de câmaras continha somente um
147 padrão de agrupamento filogenético. Assim, as três comunidades agrupadas foram
148 expostas no primeiro par de câmaras, as superdispersas no segundo par de câmaras e
149 as comunidades aleatórias no terceiro par. No segundo ciclo de exposição, os
150 diferentes padrões de agrupamento filogenético foram distribuídos igualmente entre os
151 pares de câmaras (Fig. 3). Desta forma, cada par de câmaras pode ser considerado um
152 bloco contendo todas as combinações de fatores.

153 Cada ciclo de exposição (dois ao total) teve duração média de três meses, com
154 fumigação diária (exceto aos domingos) das 10 às 16 horas. O primeiro período de
155 exposição ocorreu entre 21 de março e 20 de junho de 2011, e o segundo entre 20 de
156 junho e 26 de setembro do mesmo ano. Durante a exposição, as plântulas foram
157 irrigadas periodicamente.

158 *Teor de clorofila*

159 Para a determinação dos teores de clorofila foram retirados 10 discos foliares
160 de 0,3 cm² de cada planta e imersos em 10 ml em álcool 95% conforme metodologia
161 descrita em Knudson et al. (1997).

162 *Permeabilidade relativa de eletrólitos*

163 Para a avaliação da permeabilidade relativa de eletrólitos foram extraídos de
164 folhas selecionadas ao acaso em cada muda 10 discos de 0,3 cm² cada, que foram
165 lavados e incubados em água destilada. Após 24h de incubação à temperatura
166 ambiente, a condutividade elétrica foi medida em um condutivímetro (WTW, modelo
167 LF197). Os discos foram congelados e em seguida imersos em água destilada por mais
168 24h. Após esse período, a condutividade elétrica foi medida novamente. A
169 permeabilidade relativa de eletrólitos, expressa em percentagem, foi representada pela
170 razão entre as condutividades antes do congelamento e a soma das condutividades
171 anterior e posterior ao mesmo.

172 *Medição de dano oxidativo a lipídeos de membrana*

173 O dano a biomembranas foi avaliado somente no primeiro ciclo através da
174 determinação do conteúdo de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).
175 Este teste é utilizado como um indicativo de lipoperoxidação, segundo o protocolo
176 apresentado por Caregnato et. al (2010).

177 *Alocação da biomassa seca*

178 A biomassa de cada planta foi separada em parte aérea e raízes, lavadas em
179 água corrente, secas em estufa por sete dias a 60°C e pesadas em balança eletrônica
180 de precisão (Marte Balanças e Aparelhos de Precisão, modelo LC10) para se avaliar os
181 padrões de alocação de biomassa de cada planta através da razão entre biomassa da
182 parte aérea e das raízes.

183

184 *Área foliar*

185 Para a medição da área foliar foram retiradas 10 folhas de cada planta e
186 medidas em um medidor de área foliar LI 3000 Portable Area Meter (LI-COR
187 Biosciences).

188 *Área foliar específica*

189 A área foliar específica foi obtida retirando-se aleatoriamente 10 discos foliares
190 de 0,3 cm² de cada planta. Os discos foram secos em estufa a 60° C e pesados em
191 balança analítica (marca Sartorius, modelo BP 210S), calculando-se então a razão
192 entre área foliar e massa seca dos discos.

193 *Testes Estatísticos*

194 Os valores da média e coeficiente de variação dos dados obtidos de cada
195 comunidade foram submetidos à análise de variância com teste de permutação (Pillar e
196 Orlóci 1996). O coeficiente de variação foi submetido ao teste estatístico para se
197 verificar a variação da resposta dos indivíduos dentro da comunidade. Nos casos em
198 que a análise de variância indicou diferença significativa entre grupos, aplicou-se a
199 análise de contrastes para verificar quais grupos diferiam entre si. A significância dos
200 contrastes foi avaliada através de permutação, de maneira similar à análise de
201 variância (Pillar e Orlóci 1996). Para o presente trabalho foi considerado valores de $\alpha =$
202 0,05. Porém, como o estudo incluiu diversas espécies com respostas metabólicas
203 diferentes, valores de $\alpha = 0,1$ foram também considerados como tendências de
204 significância estatística. As análises foram feitas através do software estatístico MULTIV
205 2.63b (de V. Pillar, disponível em <<http://ecoqua.ecologia.ufrgs.br/software>>).

206

207 **Resultados**

208 As Tabelas 1 e 2, referentes ao primeiro e ao segundo ciclo de exposição,
209 respectivamente, apresentam somente os resultados das análises relativas aos
210 parâmetros que apresentaram valores de $P < 0,1$.

211 *Efeito do Ozônio*

212 O ozônio representou um importante fator de variação nos parâmetros
213 analisados, tanto no primeiro quanto no segundo ciclo de exposição. Sua concentração
214 média nas câmaras durante o primeiro ciclo foi de 70,39 partes por bilhão (ppb) para a
215 câmara 1, 42,58 ppb para a câmara 2 e 84,57 ppb para a câmara 3, enquanto no
216 segundo ciclo de exposição concentração foi de 45,02 ppb, 58,83 ppb e 33,93 ppb
217 respectivamente.

218 Dentre os parâmetros analisados, os que sofreram influência significativa da
219 presença de ozônio estão representados na Figura 4. O teor de clorofila total
220 apresentou resposta nos dois ciclos de exposição, reduzindo a quantidade nas plantas
221 expostas ao ozônio. O primeiro ciclo de exposição apresentou também um aumento no
222 vazamento relativo de eletrólitos, um maior coeficiente de variação (CV) para esse
223 parâmetro e um maior coeficiente de variação da peroxidação de lipídeos de
224 membrana nas plantas expostas ao ozônio. O segundo ciclo de exposição apresentou
225 uma redução da área foliar e na biomassa aérea, assim como um aumento de
226 biomassa das folhas caídas.

227 *Efeito do Agrupamento Filogenético*

228 O agrupamento filogenético também representou um importante fator de
229 variação na respostas das plantas aos diferentes parâmetros analisados. A Figura 5
230 mostra aqueles com influência significativa deste fator.

231 Esse fator apresentou diferentes tendências nos parâmetros nos dois ciclos de
232 exposição: enquanto no primeiro período de exposição os parâmetros média do teor de
233 clorofila total e média da razão clorofila *a/b* foram afetados, no segundo ciclo de
234 exposição, além da média do teor de clorofila total, o CV do teor de clorofila total e a
235 média e o CV da área foliar específica foram os parâmetros alterados.

236 No primeiro ciclo as comunidades aleatórias apresentaram uma maior
237 quantidade de teor de clorofila total e uma menor razão clorofila *a/b*. Já no segundo
238 ciclo, as comunidades agrupadas apresentaram uma quantidade menor de clorofila
239 total, assim como um maior CV nesse parâmetro. A área foliar específica também
240 sofreu alteração, apresentando o menor valor nas comunidades agrupadas e o maior
241 nas superdispersas, enquanto o CV desse parâmetro mostrou-se maior nas agrupadas
242 e menor nas superdispersas.

243 *Efeito da Interação Ozônio e Agrupamento Filogenético*

244 A interação entre os dois fatores analisados apresentou resultado somente no
245 primeiro ciclo de exposição, influenciando os parâmetros razão de biomassa da parte
246 aérea/raiz, biomassa de folhas caídas, CV de teor de clorofila total e CV da razão
247 clorofila *a/b*, como representado na Figura 6.

248 Os resultados mostraram efeito de antecipação de senescência foliar da
249 exposição ao ozônio em todas as estruturas filogenéticas. Também percebeu-se uma
250 tendência na redução da razão parte aérea/raiz nas comunidades agrupadas e
251 superdispersas quando expostas ao ozônio, enquanto ocorreu um aumento dessa
252 razão nas comunidades aleatórias. Enquanto a exposição ao ozônio causou uma
253 diminuição no CV do teor de clorofila total nas comunidades agrupadas e aleatórias, as
254 comunidades superdispersas apresentaram um aumento nesse parâmetro. Já o CV da

255 razão clorofila *a/b* tendeu a diminuir em todas as comunidades quando expostas ao
256 ozônio.

257 **Discussão**

258 A exposição ao ozônio mostrou claramente efeito significativo sobre diversos
259 parâmetros analisados, diminuindo o teor de clorofila total nas plantas expostas e
260 aumento no vazamento relativo de eletrólitos no primeiro ciclo. Este vazamento
261 consiste num dos primeiros sintomas de dano à membrana, e é resultado da oxidação
262 de proteínas do grupo sulfidril e de lipídeos de membrana (Caregnato et al. 2010). Os
263 resultados referentes ao aumento de biomassa de folhas caídas no segundo ciclo
264 mostram o processo de aceleração de senescência foliar, amplamente registrado como
265 um processo característico da exposição ao ozônio (Clebsch et. Al. 2009). A
266 senescência foliar pode ser antecipada por mudanças no funcionamento da membrana,
267 que afetam uma grande variedade de processos celulares pelas perdas metabólicas
268 causada pela peroxidação de lipídeos de membrana (Weber et al. 1994; Calatayud et
269 al. 2003). A síntese de antioxidantes e reparo das membranas leva a um aumento da
270 demanda de carbono na parte aérea, desta forma, mudanças na alocação de carbono
271 entre raiz e parte aérea podem ser observados (Andersen et. al 1991; Friend e
272 Tomlinson 1992; Friend et. Al 1992; Ashmore 2005). O processo de antecipação da
273 senescência foliar pode ter influenciado a significativa redução de biomassa de parte
274 aérea no segundo ciclo, devido à redução de folhas causada pela antecipação da
275 senescência foliar, pois devido. A exposição ao ozônio aumentou o CV de parâmetros
276 como o vazamento relativo de eletrólitos e a peroxidação de lipídeos de membrana,
277 provavelmente devido às diferenças do grau de sensibilidade de cada espécie a esse
278 poluente (Heggstad 1991; Nali et. al. 1998).

279 A influência da estrutura filogenética mostrou-se clara somente no segundo
280 ciclo de exposição, onde as três diferentes estruturas de comunidades estavam
281 dispostas em todos os pares de câmaras, sofrendo influência das diferentes
282 concentrações de ozônio, podendo-se então excluir o efeito desta variação sobre os
283 parâmetros analisados. Nesse ciclo, os parâmetros teor médio de clorofila total e área
284 foliar específica média foram influenciados pela estrutura filogenética das
285 comunidades. O menor valor de teor de clorofila total apresentado pelas comunidades
286 agrupadas relaciona-se com o maior CV do mesmo, assim como a redução da área
287 foliar específica deste agrupamento relaciona-se ao aumento do CV desse parâmetro.
288 Esse resultado sugere que em comunidades formadas por indivíduos filogeneticamente
289 próximos alguns parâmetros ecofisiológicos tendem a ser afetados pela maior
290 competição entre indivíduos semelhantes, o que aumenta o CV desses parâmetros,
291 apresentando um efeito da interação dos indivíduos na expressão dos fenótipos.

292 Devido ao modelo experimental realizado no primeiro ciclo de exposição, não é
293 possível afirmar que os resultados obtidos para a variação na influência da estrutura
294 filogenética são independentes das diferentes concentrações de ozônio nas câmaras.
295 Como não foi possível fazer um delineamento em blocos nesse ciclo, os resultados
296 obtidos quanto à influência da estrutura das comunidades e à influência da interação
297 da estrutura filogenética e ozônio podem ser dependentes das diferentes
298 concentrações de ozônio de cada câmara.

299 *Conclusão*

300 Além dos efeitos conhecidos da exposição ao ozônio, constatou-se também que
301 a estrutura filogenética das comunidades altera parâmetros ecofisiológicos dos
302 indivíduos que as compõem.

303 Com base nos resultados obtidos percebe-se os fatores tratamento com ozônio
304 e estrutura filogenética das comunidades atuando separadamente e influenciando
305 diferentes parâmetros ecofisiológicos. Ainda não é possível verificar se há interação
306 entre esses fatores ou se esses atuam independentemente. Para tanto, serão
307 realizados mais dois ciclos de exposição conforme o modelo experimental realizado no
308 segundo ciclo.

309 Além disso, a partir da abordagem proposta neste experimento, será possível
310 ao final dos ciclos de exposição verificar os graus de sensibilidade de diferentes
311 espécies de Myrtaceae em relação à exposição ao ozônio, possibilitando uma avaliação
312 da viabilidade de sua utilização futura em programas de biomonitoramento da
313 qualidade do ar.

314 **Agradecimentos.** Agradecemos o apoio financeiro da FAPERGS para esse projeto,
315 assim como à OZ Engenharia pela manutenção dos aparelhos geradores de ozônio.

316 **Bibliografia**

317 Altschuller A. P. 1987. Estimation of the natural background of ozone present at
318 surface rural locations. Journal of the Air Pollution Control Association 37:1409-1417.

319 Andersen C. P, Hogsett W. E., Wessling R. & Plocher M. 1991. Ozone decreases spring
320 root growth and root carbohydrate content in ponderosa pine the year following
321 exposure. Canadian Journal of Forest Research, 21: 1288- 1291.

322 Ashmore M. R. 2005. Assessing the future global impacts of ozone on vegetation.
323 Plant, Cell & Environment 28: 949-964.

324 Barbo D.N., Chappelka A. H., Somers G. I., Miller-Goodman M.S. & Stolte K. 1998.
325 Diversity of an early successional plant community as influenced by ozone. *The New*
326 *Phytologist* 138: 653-662.

327 Bassin S., Volk M. & Fuhrer J. 2007. Factors affecting the ozone sensitivity of
328 temperature European grasslands: An overview. *Environmental Pollution* 146: 678-691.

329 Biswas DK, Xu H, Li YG, Liu MZ, Chen YH, Sun JZ. 2008. Assessing the genetic
330 relatedness of higher ozone sensitivity of modern wheat to its wild and cultivated
331 progenitors/ relatives. *Journal of Experimental Botany*. 59: 951-963

332 Blomberg A, Mudway IS, Nordenhall C, Hendenstrom H, Kelly FJ, Frew AJ. 1999.
333 Ozone-induced lung function decrements do not correlate with early inflammatory or
334 antioxidant responses. *The European Respiratory Journal* 13: 1418-1428.

335 Calatayud A, Iglesias DJ, Talón M, Barreno E (2003) Effects of 2-month ozone
336 exposure in spinach leaves on photosynthesis, antioxidant systems and lipid
337 peroxidation. *Plant Physiology and Biochemistry* 41: 839-845.

338 Caregnato, Fernanda F., Clebsch, Cláudia C., Rocha, Ricardo F., Feistauer, Lucas B. H.,
339 Oliveira, Paulo L., Divan Junior, Armando D. and Moreira, José C. F. 2010. Ozone
340 exposure differentially affects oxidative stress parameters in distinct *Phaseolus vulgaris*
341 L. varieties, *Journal of Plant Interactions*, v. 5(2), p. 111-115.

342 Cavender-Bares J., Kozak K. H., Fine P. V. A. & Kembel S. W. 2009. The merging of
343 community ecology and phylogenetic biology, *Ecology Letters* 12: 693-715.

344 Clebsch, C.C., Divan Junior, A. M., Oliveira, P. L.; Nicolau, M. 2009 Physiological
345 disturbances promoted by ozone in five cultivars of *Phaseolus vulgaris* L. Brazilian
346 *Journal of Plant Physiology*, v. 21(4), p. 319-329.

347 Davison A. W. & Barnes J. D. 1998. Effects of ozone on wild plants. *New Phytologist*,
348 139: 135-151.

349 Elagöz V. & Manning W. J. 2005. Responses of sensitive tolerant bush beans
350 (*Phaseolus vulgaris* L.) to ozone in open-top chambers are influenced by phenotypic
351 differences, morphological characteristics, and the chamber environment.
352 *Environmental pollution*, 136: 371-383.

353 Friend A. L. & Tomlinson P. T. 1992. Mild ozone exposure alters ¹⁴C dynamics in
354 foliage of *Pinus taeda* L. *Tree Physiology*, 11: 215-227.

355 Friend A. L., Tomlinson P. T., Dickson R. E., O'Neil E. G., Edwards N. T. & Taylor G. E.
356 1992. Biochemical composition of loblolly pine reflects pollutant exposure. *Tree*
357 *Physiology*, 11: 35-47.

358 Heath R. L. & Packer L. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and
359 stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 125:
360 189-98.

361 Heggstad H. E. 1991. Origin of Bel-W3, Bel-C and Bel-B tobacco varieties and their
362 use as indicators of ozone. *Environmental pollution*, 74: 264-291.

363 Jarenkow e L. R. M. Baptista 1987. Composição florística e estrutura da mata com
364 araucária na Estação Ecológica de Aracuri, Esmeralda, Rio Grande do Sul. *Napaea*. 3:9-
365 18.

366 Jarenkow, J. A. 1994. Estudo fitossociológico comparativo entre duas áreas com mata
367 de encosta no Rio Grande do Sul. Tese de doutoramento, Universidade Federal de São
368 Carlos, São Carlos, Brasil.

- 369 Jurinitz, C. F. 2002. Estrutura do componente arbóreo de floresta estacional da Serra
370 do Erval, Sul do Brasil. Porto Alegre, UFRGS, Brasil.
- 371 Klein, R. M. 1984. Importância fitossociológica das mirtáceas nas florestas
372 riograndenses. Anais do 34^o Congresso Nacional de Botânica, Porto Alegre, Brasil
373 2:367-375.
- 374 Knudson L. L., Tibbits T. W. & Edwards G. E. 1977. Measurement of ozone Injury by
375 determination of leaf chlorophyll concentration. *Plant Physiology*, 60.
- 376 Lucas, E. J. et al. 2007. Suprageneric phylogenetics of Myrteae, the generically richest
377 tribe in Myrtaceae (Myrtales). *Taxon* 56: 1105-1128.
- 378 Nali C., Guidi L., Filippi F., Soldatini G. F., Lorenzini G. 1998. Photosynthesis of two
379 poplar clones contrasting in O₃ sensitivity. *Trees* 12: 196-200.
- 380 Pillar, V. D. & Orłóci, L. 1996. On randomization testing in vegetation science:
381 multifactor comparisons of relevé groups. *Journal of Vegetation Science* 7: 585-592.
- 382 Runeckles V. C. & Krupa S. V. 1994. The impact of UV-B radiation and ozone on
383 terrestrial vegetation. *Environmental Pollution*, 83, 191-213.
- 384 Silvertown J., Dodd M., Gowing D., Lawson C. & McConway K. 2006. Phylogeny and
385 the hierarchical organization of plant diversity. *Ecology* 87: 39-49.
- 386 Souza, C. A. 2001. Estrutura do componente arbóreo de floresta pluvial subtropical na
387 Serra de Tapes, sul do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, UFRGS, Brasil
- 388 Webb C. O., Ackerly D. D., McPeck M. A., & Donoghue M. J. 2002. Phylogenies and
389 community ecology. *Annual Review of Ecology and Systematics* 33: 475-505.

390 Weber JA, Tingey DT and Andersen CP (1994) Plant response to air pollution. In:
391 Wilkinson RE (ed), Plant-environment interactions, pp. 355-411. Marcel Dekker, New
392 York, USA.

393 Westoby M., Leishmn M. R. & Lord J. M. 1995. On misinterpreting the 'phylogenetic
394 correction'. *Journal of Ecology* 83: 531-534.

395 Williams N. S. G., Schwartz M. W., Vesk P. A., McCarthy M. A., Hahs A. K., Clemants S.
396 E., Colett R. T., Duncan R. P., Norton B. A., Thompson K. & McDonnell M. J. 2009. A
397 conceptual framework for predicting the effects on urban environments on floras.
398 *Journal of Ecology* 97: 4-9.

399

400

401 **Tabelas:**

402 **Tabela 1:** Valores da soma de quadrados (Q) dos parâmetros analisados do 1º ciclo
 403 de exposição com resultados significativos. (***P≤0,001, **P≤0,05 e *P≤0,1)

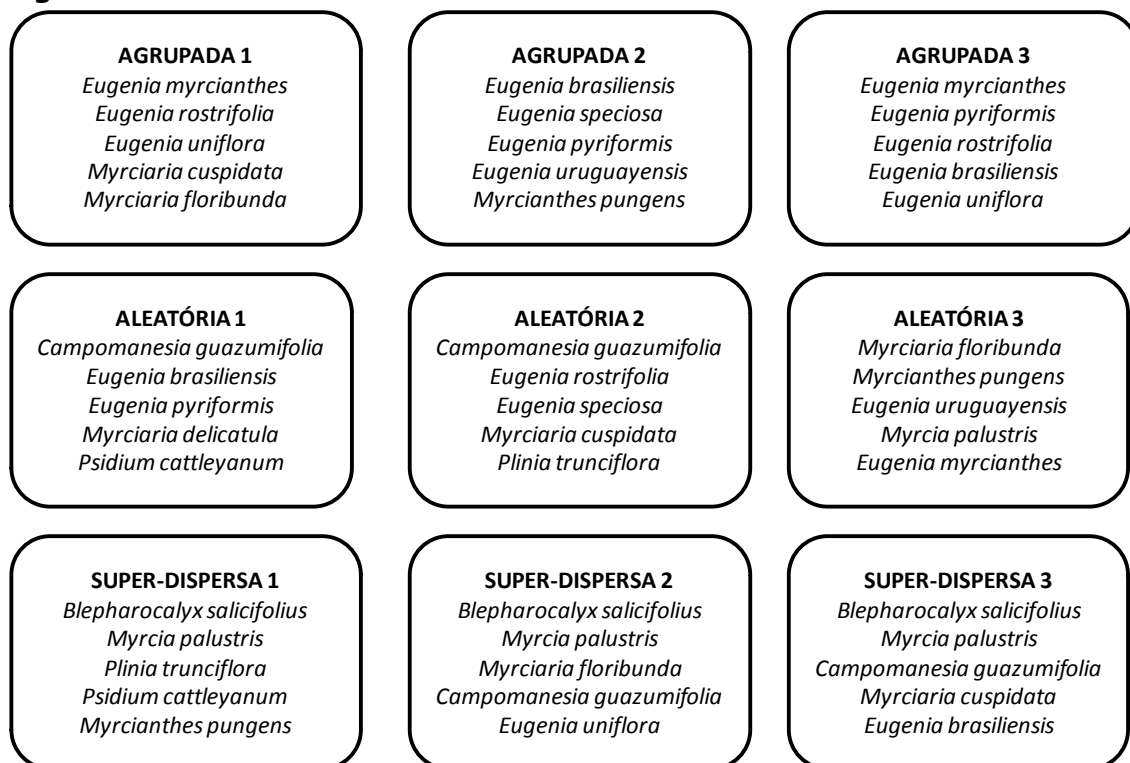
1º Ciclo Parâmetro	Fonte de variação				Total
	Ozônio (O)	Estrutura filogenética (F)	O x F	Erro	
Md Biomassa A/R	0,009	1,931*	2,773***	1,821	6,535
CV Clorofila a+b	0,001	0,0117	0,039**	0,055	0,107
Md Clorofila a+b	5,335**	5,614**	1,608	6,760	19,31
CV Clorofila a/b	0,016*	0,087***	0,019*	0,042	0,166
Md Clorofila a/b	0,002	2,755***	0,059	0,130	2,946
CV Eletrólitos	0,149**	0,040	0,016	0,227	0,433
Md Eletrólitos	648,64***	18,774	28,757	251,69	947,86
Md Biomassa Folhas Caídas	0,0004***	0,00001**	0,00005**	0,0008	0,001
CV TBA	1,6226*	0,473	0,491	7,168	9,754

404

405 **Tabela 2:** Valores da soma de quadrados (Q) dos parâmetros analisados do 2º ciclo
 406 de exposição com resultados significativos. (***P≤0,001, **P≤0,05 e *P≤0,1)

2º Ciclo Parâmetro	Fonte de variação					Total
	Ozônio (O)	Estrutura filogenética (F)	O x F	Erro	Bloco	
Md Área Foliar	14,329**	12,282	6,19	154,63	36,35	223,78
CV Área Foliar Especifica	0,007	0,099***	0,01	0,09	0,11	0,31
MD Área Foliar Específica	2074,600	5364,9**	1027,50	5730,30	8319,90	22517,00
MD Biomassa Aérea	0,000036**	0,000037333	0,00000647	0,0001	0,000029	0,0002
CV Clorofila a+b	0,035	0,099**	0,03	0,19	0,00	0,36
Md Clorofila a+b	3,911*	4,791*	3,48	8,63	0,61	21,42
Md Biomassa Folhas Caídas	0,0002***	0,000011	0,0000084	0,0001390	0,0000711	0,000316

407

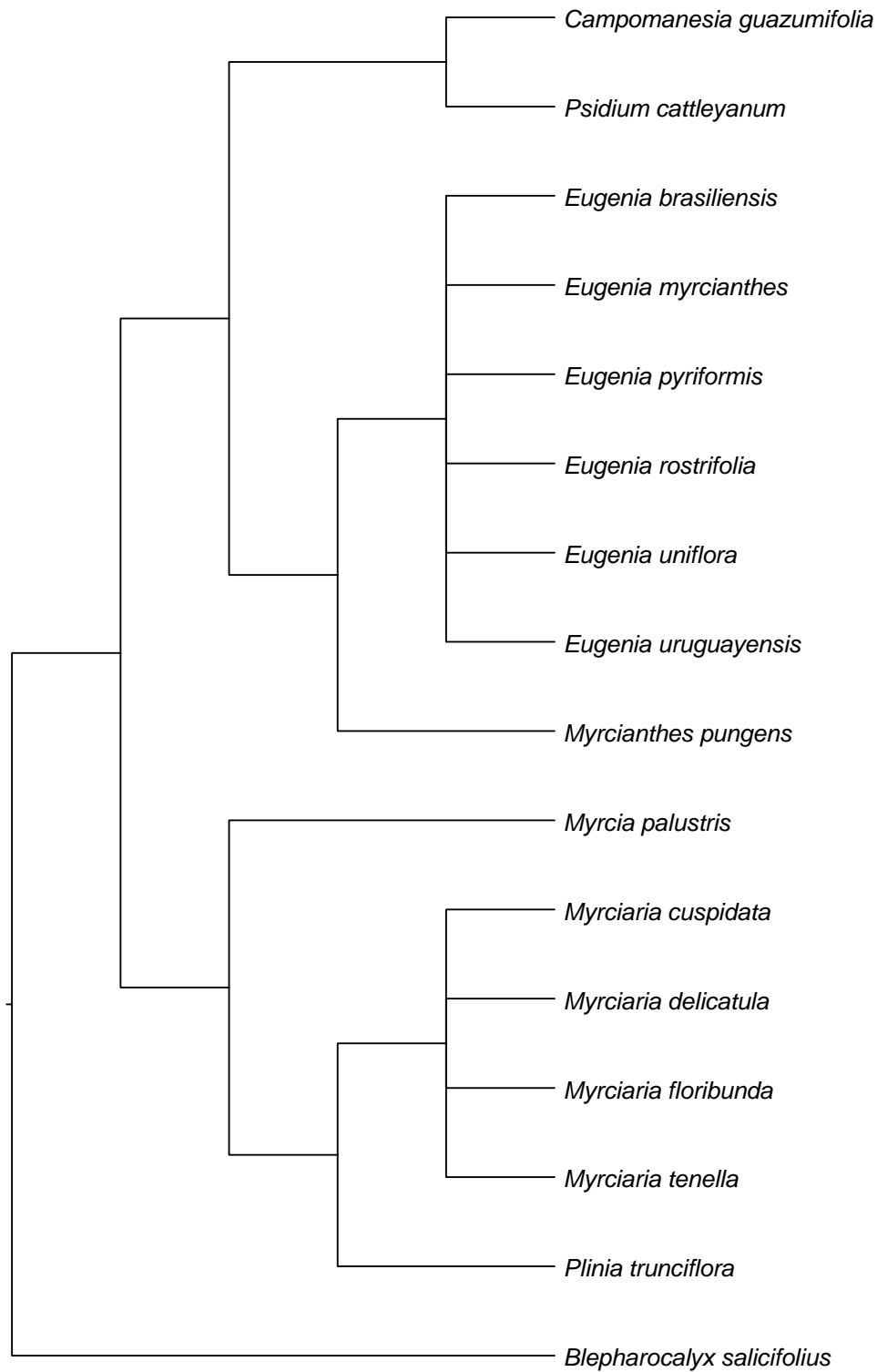
Figuras:

409

410

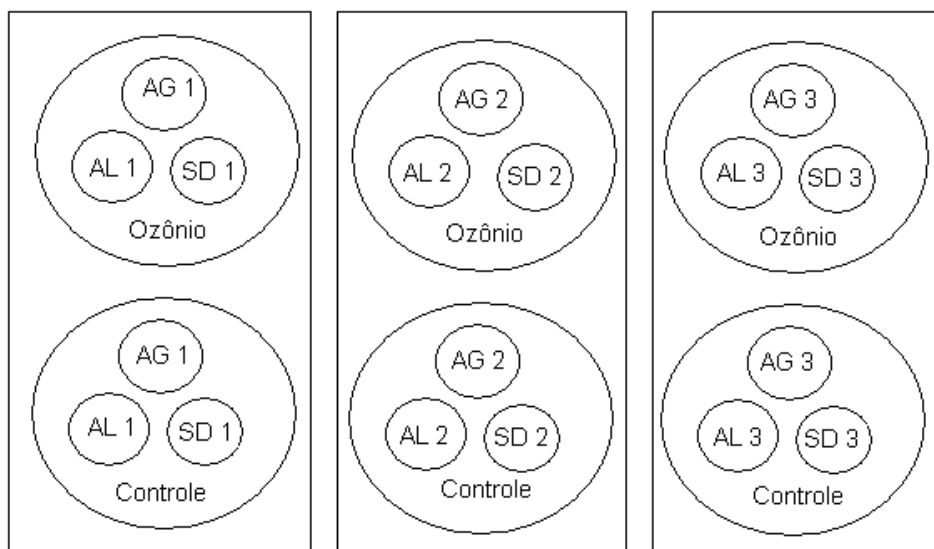
411

Fig. 1. Comunidades experimentais formadas por sorteio. Cada comunidade foi constituída por cinco indivíduos jovens de Myrtaceae, um de cada espécie.



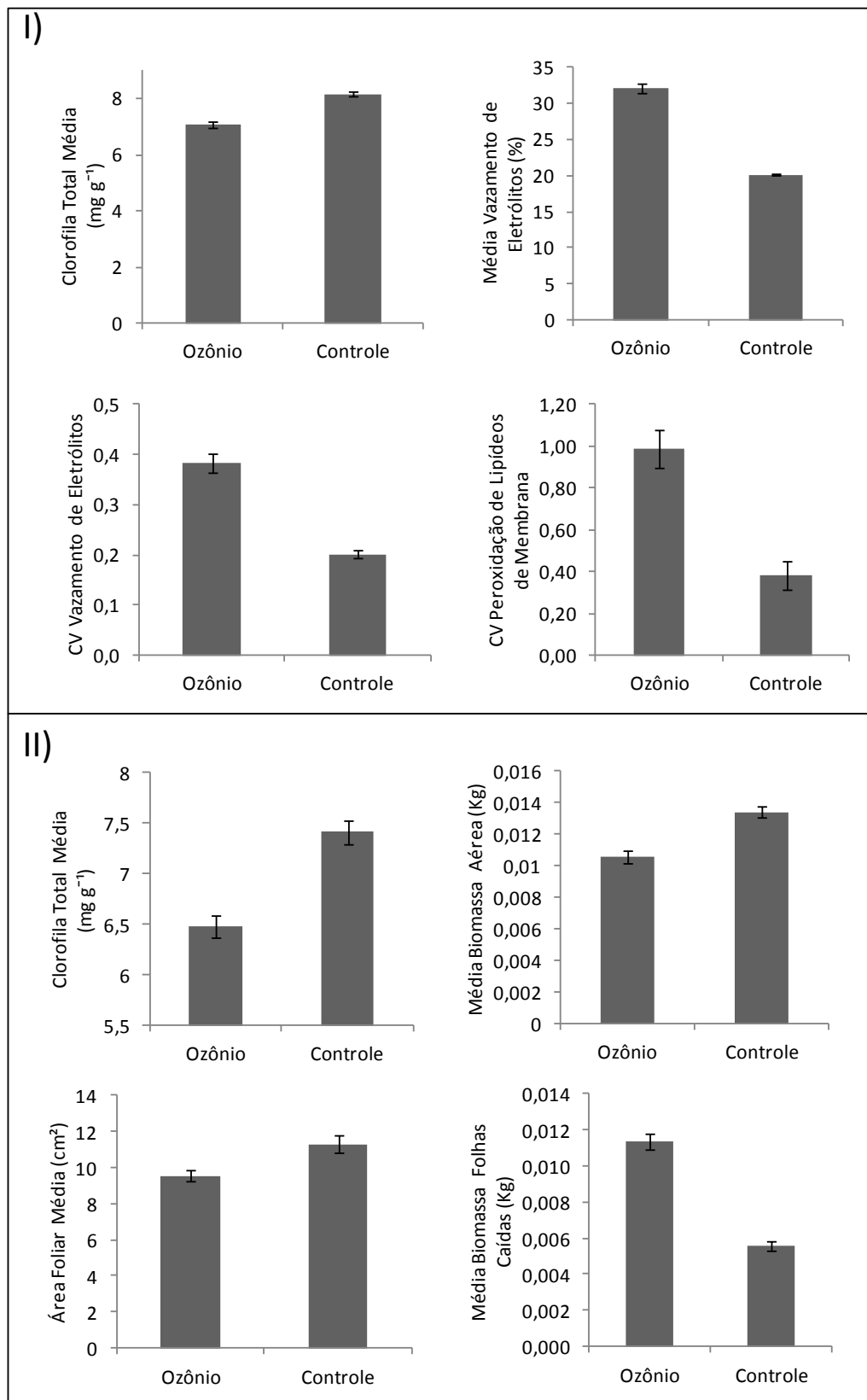
412
413
414
415

Fig. 2. Árvore filogenética das espécies da família Myrtaceae usadas no experimento, segundo a hipótese filogenética proposta por Lucas et al. (2007). Comprimentos dos ramos são arbitrários.



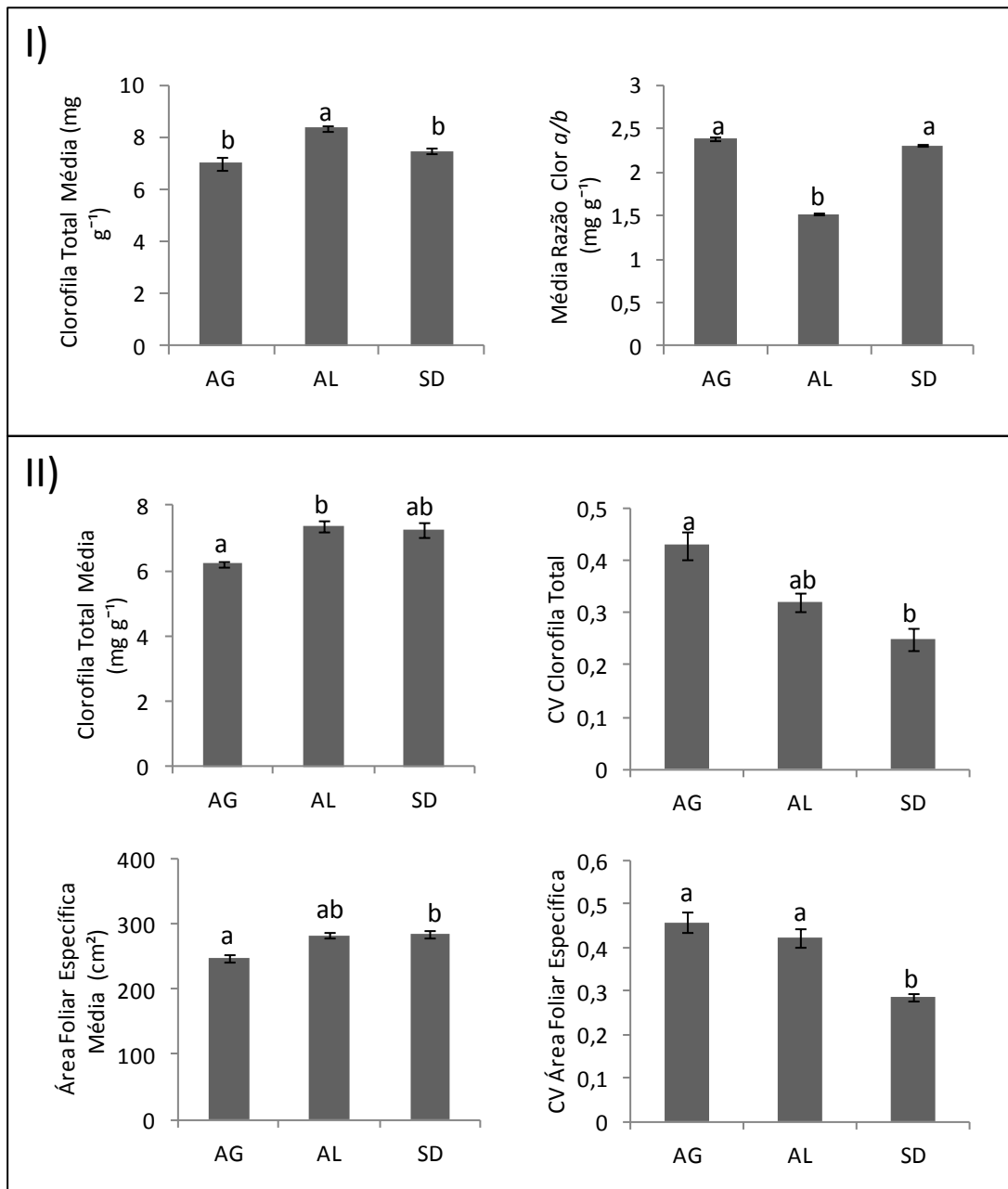
416
 417
 418
 419

Fig. 3. Modelo de exposição das comunidades no 2º ciclo de exposição, cada retângulo agrupa um par de câmaras.



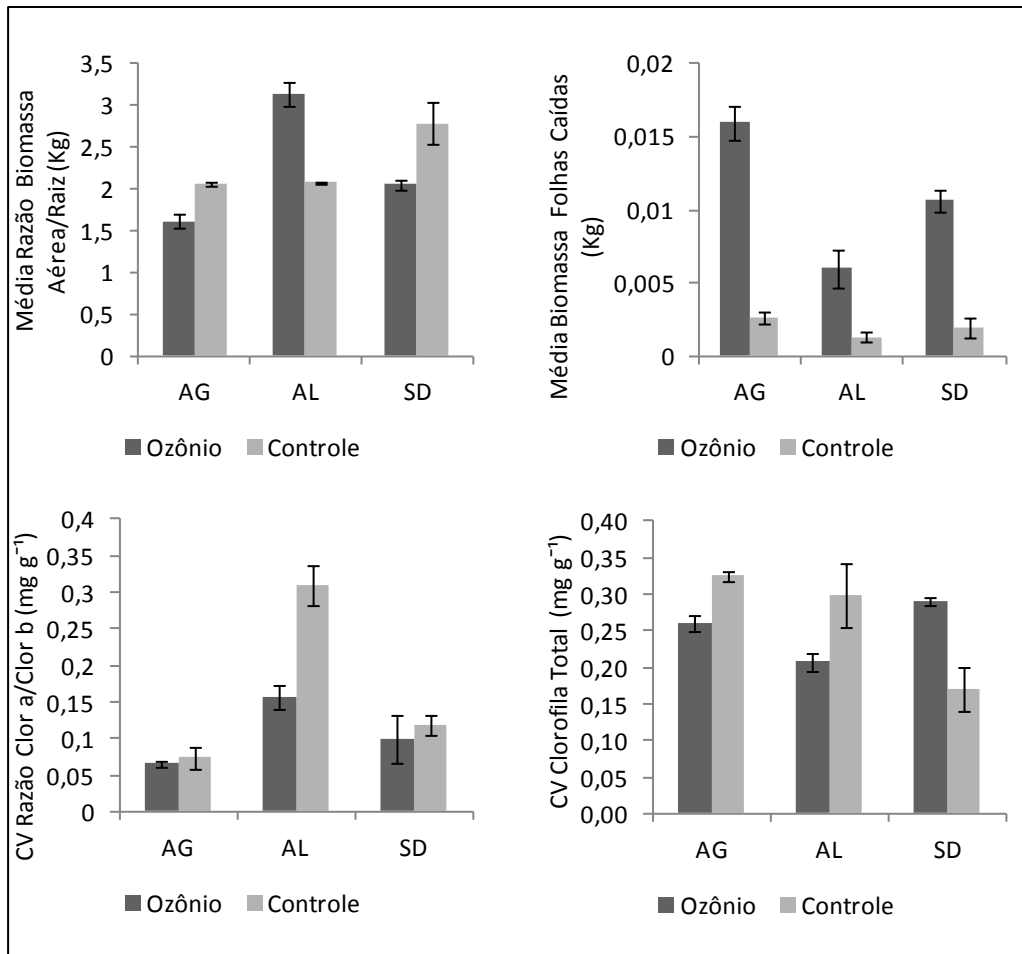
420
421
422
423

Fig. 4. Parâmetros analisados com resultados significativos à exposição ao ozônio. Quadros I e II apresentam resultados do 1º e do 2º ciclo de exposição, respectivamente.



424
425
426
427

Fig. 5. Parâmetros analisados com resultados significativos para a influência da estrutura filogenética das comunidades. Quadros I e II apresentam resultados do 1º e 2º ciclo de exposição, respectivamente.



428
429
430

Fig. 6. Resultados referentes ao 1º ciclo de exposição para parâmetros analisados que apresentaram influência da estrutura filogenética e exposição ao ozônio.