

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA

Dissertação de Mestrado

POTENCIAL BIOINDICADOR DE CULTIVARES DE FEIJÃO
(*Phaseolus vulgaris* L.) PARA O MONITORAMENTO DO OZÔNIO
TROPOSFÉRICO

Cláudia Cristina Clebsch

Porto Alegre, Abril de 2008

POTENCIAL BIOINDICADOR DE CULTIVARES DE FEIJÃO
(*Phaseolus vulgaris* L.) PARA O MONITORAMENTO DO OZÔNIO
TROPOSFÉRICO

Cláudia Cristina Clebsch

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia, do Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ecologia.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Luiz de Oliveira
Colaborador: Dr. Armando Molina Divan Jr.

Comissão Examinadora
Prof. Dr. Carlos Alberto Martinez
Prof. Dr. Geraldo Luiz Gonçalves Soares
Prof. Dr. Luís Mauro Gonçalves Rosa

Porto Alegre, Abril de 2008

Agradecimentos

Aos meus pais, Teodoro e Leonilda Marina, que sempre me incentivaram a estudar e nunca pouparam esforços em prol de seus filhos.

Ao meu orientador Dr. Paulo Luiz de Oliveira e, em especial, ao meu colaborador Dr. Armando Molina Divan Jr. pela amizade, apoio e dedicação.

Ao meu noivo, Diego Patrício, pela compreensão, apoio e companheirismo.

Aos colegas de laboratório de Bioindicação Vegetal da UFRGS, Carolina, Fábio, Fernanda e Estela pela ajuda e momentos de descontração.

À EMBRAPA Trigo pela oportunidade que me deu de terminar meus experimentos e assim poder concluir o meu mestrado.

Ao Prof^o. Dr. Everaldo Gonçalves de Barros, do Departamento de Biologia Geral da Universidade Federal de Viçosa e à FEPAGRO Litoral Norte pelo envio de sementes.

À OZ ENGENHARIA pela doação do aparelho ozonizador.

À Dra. Lúcia Dillenburg pelo empréstimo do *data logger*.

À Capes e à Copesul pelo auxílio financeiro.

Resumo

O ozônio troposférico (O₃) é um dos poluentes mais importantes da atualidade, sendo formado pela interação de óxidos de nitrogênio, hidrocarbonetos e radiação ultravioleta. Ele ou seus radicais livres estão associados ao aumento da incidência de doenças pulmonares em seres humanos, além de causar danos à vegetação e à produtividade agrícola em diversas regiões do mundo. Portanto, é de fundamental importância que sejam pesquisadas e padronizadas espécies e/ou cultivares sensíveis a este poluente, para que se possa fazer a bioindicação da qualidade do ar, uma vez que esta apresenta custo baixo e fácil implementação. Desta forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o potencial bioindicador de 4 cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), desenvolvidas pela FEPAGRO (Fundação de Pesquisa Agropecuária) Litoral Norte do Rio Grande do Sul, através de sua comparação com a cultivar reconhecidamente sensível ao ozônio, a US Pinto 111. Para tanto, foram empregados parâmetros fotossintéticos, vazamento relativo de eletrólitos, abscisão foliar e medidas de biomassa. Plântulas de 8 dias (contados a partir da semeadura) das cultivares Fepagro 26, Guapo Brilhante, Iraí, Macotaço e US pinto 111 foram submetidas, em câmaras de topo-aberto, aos tratamentos sem e com adição de ozônio ao ar ambiente. Ao todo, foram realizados 7 eventos de fumigação, com duração de uma semana cada, e fumigação diária das 10:00 às 16:00 horas. Em cada um desses 7 eventos de fumigação, foram utilizadas 5 plântulas/tratamento/cultivar, totalizando 25 plântulas por câmara. A exposição ao ozônio causou, em algum momento, decréscimos significativos na assimilação líquida de todas as cultivares, exceto na Iraí. Esses decréscimos na assimilação líquida foram associados principalmente à atividade da Rubisco *in vivo* e, secundariamente, à capacidade de transporte de elétrons. A exposição ao ozônio causou também um aumento significativo no vazamento relativo de eletrólitos da cultivar Pinto, mas apenas quando a soma das concentrações horárias acima 40 ppb (AOT40) foi a mais elevada.

Além disso, o tratamento com ozônio causou uma antecipação significativa no tempo de abscisão foliar apenas nas cultivares Pinto, Fepagro e Guapo, sendo que isto ocorreu em pelo menos um dos dois experimentos realizados para avaliação desse parâmetro. Quanto às medidas de biomassa da raiz, parte aérea e total da planta, pode-se dizer que períodos mais longos de exposição ao ozônio são necessários para ocorrerem modificações significativas e confiáveis nesse parâmetro. Embora tenha havido bastante instabilidade nos resultados, devido, provavelmente, a fatores ambientais não mensurados, pôde-se, com este estudo, confirmar a sensibilidade da cultivar US Pinto 111 ao ozônio e mostrar que a cultivar Fepagro 26 tem um ótimo potencial para ser empregada em estudos futuros como um bioindicador sensível ao ozônio, enquanto a cultivar Iraí poderia ser considerada resistente. Além disso, entre os parâmetros avaliados, a assimilação líquida e a abscisão foliar mostraram ser os mais eficientes para fazer a classificação das cultivares em níveis de sensibilidade.

Palavras chaves: ozônio troposférico, bioindicação da qualidade do ar, *Phaseolus vulgaris*, fotossíntese, vazamento relativo de eletrólitos, abscisão foliar, biomassa, câmara de topo-aberto.

Abstract

Today, tropospheric ozone (O₃) is one of the most important pollutants. It is formed by the interaction of oxides of nitrogen, hydrocarbons and ultraviolet radiation. It or its free radicals are associated with the increased incidence of lung diseases in humans, in addition to damage to vegetation and crop yield in different regions of the world. It is essential, therefore, to research and standardize species and/or cultivars sensitive to this pollutant, in order to be able to perform the bioindicator air quality, since this is low cost and easy to implement. The present study, thus, deal to evaluate the bioindicator potential of 4 bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars, developed by FEPAGRO (Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária) North Coast from Rio Grande do Sul, by comparing it with the cultivar that is known to be sensitive to ozone, US Pinto 111, using some parameters such as photosynthesis, relative leakage of electrolytes, foliar abscission and biomass measures. For this 8-day seedlings, counting from the date of sowing, of Fepagro 26, Guapo Brilhante, Iraí, were used for treatments with and without addition of ozone to the ambient air. In all, 7 fumigation events were performed, lasting one week each, and daily fumigation from 10 am to 4 pm. In each of these 7 fumigation events, 5 seedlings/treatment/cultivar were used, a total of 25 seedlings per chamber. Exposure to ozone at some point caused significant reductions in the net assimilation of all cultivars except Iraí. These reductions in net assimilation were associated mainly with the in vivo activity of Rubisco, and secondarily with the electron transport capacity. Exposure to ozone also caused a significant increase in the relative leakage of electrolytes from Pinto cultivar, but only when sum of daily concentrations above 40 ppb (AOT40) was highest. In addition, treatment with ozone caused a significant anticipation in foliar abscission time only in the Pinto,

Fepagro and Guapo cultivars. This occurred in a least one of the two experiments performed to evaluate this parameter. As to the measures of root biomass, aerial part and total plant, it might be said that longer periods of exposure to the pollutant are necessary for significant, reliable changes to occur in this parameter. Although the results were quite unstable, probably due to unmeasured environmental factors, with this study one can confirm the sensitivity of US Pinto 111 cultivar to ozone and show that the Fepagro 25 cultivar has an excellent potential for future use as an ozone-sensitive bioindicator, while the Iraí cultivar could be considered resistant. In addition, among the parameters evaluated in this study, net assimilation and leaf abscission proved to be most efficient to classify the cultivars as to levels of sensitivity.

Key-words: tropospheric ozone, bioindicator air quality, *Phaseolus vulgaris*, photosynthesis, relative leakage of electrolytes, foliar abscission, biomass, open-top chambers.

Sumário

Agradecimentos	iii
Resumo	iv
Abstract	vi
Sumário	viii
Relação de Figuras	x
Relação de Tabelas	xi
Relação de Abreviatura	xii
1. Introdução.....	1
2. Revisão Bibliográfica.....	3
2.1. Locais de Ocorrência e Modo de Formação do Ozônio.....	3
2.2. Mecanismo de Ação do Ozônio nas Plantas e Fatores que Influenciam a Sensibilidade a este Poluente	5
2.3. Por Que Utilizar Parâmetros Fisiológicos e/ou Bioquímicos para Avaliar a Sensibilidade ao Ozônio.....	6
2.4. Danos Causados Pelo Ozônio na Vegetação	7
3. Material e Métodos	10
3.1. Construção e Funcionamento das Câmaras de Topo-aberto	10
3.2. Aquisição e Armazenamento das Sementes	13
3.3. Condições de Cultivo	13
3.4. Fumigação	13
3.5. Parâmetros Avaliados nas Plantas	16
3.5.1. Parâmetros Fotossintéticos	16
3.5.2. Vazamento Relativo de Eletrólitos	19
3.5.3. Abscisão Foliar	20
3.5.4. Acúmulo de Massa Seca	20
3.5.5. Análise Estatística.....	20
4. Resultados	21
4.1. Parâmetros Fotossintéticos e Vazamento Relativo de Eletrólitos	21
4.2. Abscisão Foliar	29
4.3. Acúmulo de Massa Seca	30
5. Resultados	33
6. Conclusões e Sugestões de Trabalhos Futuros.....	42
7. Referências Bibliográficas	43
8. Anexos.....	53
8.1. Análise Estatística Experimento 1	53
8.1.1. Assimilação Líquida (A).....	53
8.1.2. Assimilação Máxima (Amax)	53
8.1.3. Eficiência de Carboxilação (ce).....	53
8.1.4. Velocidade Máxima de Carboxilação da Rubisco (Vcmax)	54
8.1.5. Capacidade de Transporte de Elétrons (Jmax)	54

8.1.6.	Respiração	54
8.1.7.	Limitação Estomática (Ls)	54
8.1.8.	Condutância Estomática (g_s)	55
8.1.9.	Transpiração (E)	55
8.1.10.	Razão Ci/Ca.....	55
8.1.11.	Eficiência no Uso da Água (WUE)	55
8.1.12.	Vazamento Relativo de Eletrólitos	56
8.2.	Análise Estatística Experimento 2	56
8.2.1.	Biomassa da Parte Aérea.....	56
8.2.2.	Biomassa da Raiz.....	56
8.2.3.	Biomassa Total da Plântula	57
8.3.	Análise Estatística Experimento 3	57
8.3.1.	Abscisão Foliar	57
8.4.	Análise Estatística Experimento 4	57
8.4.1.	Assimilação Líquida (A).....	57
8.4.2.	Assimilação Máxima (Amax)	58
8.4.3.	Eficiência de Carboxilação (ce).....	58
8.4.4.	Velocidade Máxima de Carboxilação da Rubisco (Vcmax)	58
8.4.5.	58	
8.4.6.	Capacidade de Transporte de Elétrons (Jmax)	58
8.4.7.	Respiração	59
8.4.8.	Limitação Estomática (Ls)	59
8.4.9.	Condutância Estomática (g_s)	59
8.4.10.	Transpiração (E)	59
8.4.11.	Razão Ci/Ca.....	60
8.4.12.	Eficiência no Uso da Água (WUE)	60
8.4.13.	Vazamento Relativo de Eletrólitos	60
8.5.	Análise Estatística Experimento 5	61
8.5.1.	Assimilação Líquida (A).....	61
8.5.2.	Assimilação Máxima (Amax)	61
8.5.3.	Eficiência de Carboxilação (ce).....	61
8.5.4.	Velocidade Máxima de Carboxilação da Rubisco (Vcmax)	62
8.5.5.	Capacidade de Transporte de Elétrons (Jmax)	62
8.5.6.	Respiração	62
8.5.7.	Limitação Estomática (Ls)	62
8.5.8.	Condutância Estomática (g_s)	63
8.5.9.	Transpiração (E)	63
8.5.10.	Razão Ci/Ca.....	63
8.5.11.	Eficiência no Uso da Água (WUE)	63
8.5.12.	Vazamento Relativo de Eletrólitos	64
8.6.	Análise Estatística Experimento 6	64
8.6.1.	Biomassa da Parte Aérea.....	64
8.6.2.	Biomassa da Raiz.....	64
8.7.	Análise Estatística Experimento 7	65
8.7.1.	Abscisão Foliar	65

Relação de Figuras

Figura 1A: Diagrama esquemático de um sistema para cultivo de plantas em atmosfera enriquecida com O ₃	11
Figura 1B: Local e estrutura onde foram mantidas as câmaras de topo-aberto.....	12
Figura 2: Assimilação líquida de plântulas de feijão de cinco cultivares diferentes expostas ou não à atmosfera enriquecida com ozônio..	25
Figura 3: Assimilação máxima de plântulas de feijão de cinco cultivares diferentes expostas ou não à atmosfera enriquecida com ozônio.....	25
Figura 4: Eficiência de carboxilação de plântulas de feijão de cinco cultivares diferentes expostas ou não à atmosfera enriquecida com ozônio..	25
Figura 5: Velocidade máxima de carboxilação de plântulas de feijão de cinco cultivares diferentes expostas ou não à atmosfera enriquecida com ozônio	26
Figura 6: Capacidade de transporte de elétrons de plântulas de feijão de cinco cultivares diferentes expostas ou não à atmosfera enriquecida com ozônio	26
Figura 7: Respiração de plântulas de feijão de cinco cultivares diferentes expostas ou não à atmosfera enriquecida com ozônio	26
Figura 8: Limitação estomática de plântulas de feijão de cinco cultivares diferentes expostas ou não à atmosfera enriquecida com ozônio.....	27
Figura 9: Condutância estomática de plântulas de feijão de cinco cultivares diferentes expostas ou não à atmosfera enriquecida com ozônio	27
Figura 10: Transpiração de plântulas de feijão de cinco cultivares diferentes expostas ou não à atmosfera enriquecida com ozônio	27
Figura 11: Razão Ci/Ca de plântulas de feijão de cinco cultivares diferentes expostas ou não à atmosfera enriquecida com ozônio	28
Figura 12: Eficiência no uso da água de plântulas de feijão de cinco cultivares diferentes expostas ou não à atmosfera enriquecida com ozônio	28
Figura 13: Vazamento relativo de eletrólitos de plântulas de feijão de cinco cultivares diferentes expostas ou não à atmosfera enriquecida com ozônio	28
Figura 14: Abscisão Foliar de plântulas de feijão de cinco cultivares diferentes expostas ou não à atmosfera enriquecida com ozônio	29
Figura 15: Biomassa da raiz de plântulas de feijão de cinco cultivares diferentes expostas ou não à atmosfera enriquecida com ozônio	31
Figura 16: Biomassa da parte aérea de plântulas de feijão de cinco cultivares diferentes expostas ou não à atmosfera enriquecida com ozônio	31
Figura 17: Biomassa total de plântulas de feijão de cinco cultivares diferentes expostas ou não à atmosfera enriquecida com ozônio	32

Relação de Tabelas

Tabela 1: Parâmetros Avaliados em Cada um dos Experimentos	15
Tabela 2: Concentrações de Ozônio em Cada um dos Experimentos na Câmara com Fumigação ..	16
Tabela 3: Valores de Temperatura e Umidade para Cada um dos Experimentos	16

Relação de Abreviatura

A	Assimilação líquida instantânea
A_{\max}	Assimilação máxima
AOT ₄₀	Concentração horária de ozônio acumulada acima de 40 ppbv
ATP	Adenosina trifosfato
C _i /C _a	Razão entre a concentração de CO ₂ interna da folha e CO ₂ ambiente
E	Transpiração
ec	Eficiência de carboxilação
EROs	Espécies reativas de oxigênio
g_s	Condutância estomática
J _{max}	Capacidade de transporte de elétrons
L _s	Limitação estomática
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida
O ₃	Ozônio
RuBP	Ribulose-1,5-bisfosfato
V _{cmax}	Velocidade máxima de carboxilação da rubisco
VRE	Vazamento relativo de eletrólitos
WUE	Eficiência instantânea no uso da água

1. Introdução

Nas últimas décadas, as atividades antrópicas têm induzido aumentos significativos nas concentrações de ozônio troposférico numa escala global (Bray *et al.*, 2000). Para se ter uma idéia, a concentração média do ozônio no hemisfério norte dobrou durante o século 20 e está crescendo a uma taxa atual de 0,5-2,0% ao ano (Runeckles & Krupa, 1994). Se as emissões de óxidos de nitrogênio não forem drasticamente reduzidas, a tendência para o futuro próximo é de uma ocorrência de incrementos mais rápidos que os anteriormente observados, alcançando níveis até 40% superiores aos atuais no decorrer dos próximos 30 anos, em consequência do aquecimento global (Sanders *et al.*, 1993). Isso ocorre porque, com o aquecimento, aumentam as probabilidades de tempo ensolarado e seco, condições essas que favorecem a formação do ozônio na troposfera (Schnug, 1998).

O ozônio intensifica a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) nas células, como os radicais hidroxila ($\bullet\text{OH}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), superóxido ($\text{O}_2\bullet^-$) e oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$) (Bray *et al.*, 2000). Essas espécies químicas podem iniciar múltiplos eventos de oxidação, seja através da sua reação com as ligações duplas insaturadas dos ácidos graxos (Mudd, 1982), ou através da oxidação de grupos $-\text{SH}$ (Eckardt & Pell, 1995).

Embora o ozônio ocorra principalmente em áreas urbanas e industriais, sua presença pode se estender às áreas suburbanas e rurais (Runeckles & Krupa, 1994). Desse modo, além do ozônio estar associado com uma série de problemas aos seres humanos, a exemplo de doenças pulmonares (devido à destruição dos cílios das vias aéreas); irritação nos olhos, nariz e garganta; envelhecimento precoce da pele; náusea; dor de cabeça e fadiga (Klumpp *et al.*, 2001), ele também é, atualmente e em escala global, o poluente que causa mais danos à vegetação do que todos os demais poluentes somados (Elagöz & Manning, 2005).

Devido à resposta específica a diferentes poluentes, algumas espécies são excelentes bioindicadoras de diversas fontes de poluição (Levin & Pignata, 1995). Além de fácil implementação e do baixo custo, o uso de bioindicadores, embora não pretenda e nem consiga substituir medições de concentrações ambientais de poluentes através de métodos físico-químicos, fornece informações adicionais referentes aos efeitos sobre os organismos vivos (Klumpp *et al.*, 2001). Porém, o emprego da bioindicação, na avaliação de impacto ambiental e monitoramento da qualidade do ar, ainda é pouco utilizado no Brasil, devido ao escasso conhecimento a respeito da sensibilidade das espécies tropicais e subtropicais aos poluentes atmosféricos.

O número de trabalhos publicados nesta área, realizados no Brasil, vem crescendo notadamente nos últimos anos, porém, a grande maioria dos grupos de pesquisa nesta temática baseia-se ainda em estudos de campo, nos quais as plantas, a serem testadas, são expostas na área de influência de fontes emissoras de poluentes atmosféricos a distâncias crescentes do ponto de emissão. Esta abordagem apresenta como inconvenientes a multiplicidade de variáveis não controladas e a possibilidade de sinergismo entre poluentes, que em condições naturais, raramente se apresentam isolados. Esta situação dificulta a atribuição inequívoca, das respostas encontradas, a um determinado poluente.

Com base no exposto acima e sabendo-se que os níveis críticos atuais de O₃ para proteção de culturas agrícolas, vegetação natural e espécies florestais contra efeitos adversos são baseados em relações de dose-resposta derivadas, principalmente, de experimentos com câmaras de topo-aberto (Grünhage *et al.*, 2001), foi construído um sistema de gaseificação de plantas com atmosfera enriquecida com ozônio. O objetivo principal deste trabalho foi avaliar o potencial bioindicador de 4 cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), desenvolvidas pela FEPAGRO Litoral Norte, através de sua comparação com a cultivar reconhecidamente sensível ao ozônio, a US Pinto 111 (Arndt *et al.*, 1987). Para isto, utilizou-se parâmetros fotossintéticos, vazamento relativo de eletrólitos, abscisão foliar e medidas de biomassa, os quais são particularmente sensíveis a este poluente e que estão melhor detalhados no item 2.3 da Revisão Bibliográfica.

2. Revisão Bibliográfica

2.1. Locais de Ocorrência e Modo de Formação do Ozônio

O ozônio (O_3) é um gás que está presente naturalmente tanto na estratosfera quanto na troposfera. Na estratosfera, que dependendo da latitude fica situada entre 7 e 17 até 50 km de altitude e que comporta, aproximadamente, entre 85-90% do conteúdo total de ozônio, o O_3 é produzido por fotodissociação do O_2 em átomos de oxigênio que depois se combinam com o O_2 . É nessa camada, portanto, que está situada a camada ozônio, a qual realiza o importante papel de filtragem da radiação ultravioleta que chega até a superfície da Terra. Já na troposfera, que se estende da superfície da Terra até a base da estratosfera, embora o ozônio também seja capaz de filtrar os raios ultravioletas, ele exerce efeito nocivo sobre a vegetação e animais em decorrência do seu alto poder oxidativo (Halliwell & Gutteridge, 2007).

O ozônio faz parte do grupo de “oxidantes fotoquímicos”, que é a denominação que se dá à mistura de poluentes secundários formados pelas reações entre os óxidos de nitrogênio e compostos orgânicos voláteis (hidrocarbonetos), na presença de luz solar. Os precursores do ozônio são liberados principalmente pela combustão e evaporação de combustíveis e solventes, mas até as árvores contribuem na produção de compostos orgânicos voláteis. No estado de São Paulo, por exemplo, os veículos sozinhos são responsáveis por 96% dos óxidos de nitrogênio lançados ao ar. De acordo com uma pesquisa apresentada ao Instituto de Astronomia Geofísica e Ciências Atmosféricas (IAG) da USP, os hidrocarbonetos liberados pelas plantas contribuem com cerca de 15% do ozônio presente na região metropolitana de São Paulo (Telles, 2003).

Devido a disponibilidade crescente de seus precursores (óxidos de nitrogênio e hidrocarbonetos), resultante do aumento da frota veicular, a concentração de ozônio troposférico

vem aumentando drasticamente nas últimas décadas (Naja *et al.*, 2003). Os primeiros registros de danos causados pelo O₃ ocorreram em meados de 1950 em plantações agrícolas e em *Pinus ponderosa* nas vizinhanças de Los Angeles, e no tabaco, no leste dos Estados Unidos (Sandermann *et al.*, 1997). Atualmente, estudos indicam que de todos os poluentes atmosféricos, o ozônio é o mais difundido (Martins *et al.*, 2006). Além disso, o ozônio também é o poluente que mais vezes ultrapassa o padrão de qualidade do ar. O valor máximo considerado como não prejudicial ao meio ambiente, estabelecido pelo CONAMA é de 160 µg.m⁻³ (~80ppb), em monitoramento contínuo de 1 hora. Só na região metropolitana de São Paulo, por exemplo, em 2004 o padrão foi ultrapassado em 60 dias – média histórica até baixa, em comparação aos últimos cinco anos (em 2002, foram 82 dias), mas apenas por causa das condições meteorológicas favoráveis (Furtado, 2005). Em Porto Alegre, o ozônio medido em três locais, um no centro da cidade e dois situados a 30 km a sudeste e 30 km ao norte, excedeu em 19 dias o padrão nacional de qualidade do ar no período de março de 1996 a abril de 1997 (PETROBRAS, 1998). Nesta mesma cidade, no ano de 2002, o ozônio foi responsável pelo maior percentual (40%) dos episódios de qualidade regular do ar, sendo que as concentrações mais elevadas foram observadas no período de primavera-verão, em função da oferta abundante de radiação e das temperaturas elevadas, as quais influenciam os níveis máximos de concentração deste poluente (FEPAM, 2003).

A necessidade de luz para ocorrer a quebra das moléculas dos hidrocarbonetos, tornando-as aptas a se combinarem com os óxidos de nitrogênio e, assim, formarem o ozônio, faz com que sua presença na atmosfera aumente nos meses mais ensolarados. Estudos realizados nos Estados Unidos e na Europa, mostram que a formação do ozônio depende ainda de questões meteorológicas como vento e umidade e até do relevo, já que locais mais altos são mais expostos à radiação. Portanto, quanto maior a presença de seus precursores (óxidos de nitrogênio e hidrocarbonetos), mais luz, calma (ausência de vento) e ausência de chuva, maior a formação do ozônio. Além disso, o ozônio pode ter trajetórias longas, atravessando países. Em geral, apesar das emissões de automóveis serem maiores nos centros, os níveis mais altos de ozônio nas cidades

acontecem na periferia, principalmente em locais mais altos. Por essa razão, não é possível encontrar um único mecanismo de controle (Cruz & Antunes, 2005).

2.2. Mecanismo de Ação do Ozônio nas Plantas e Fatores que Influenciam a Sensibilidade a este Poluente

A fitotoxicidade do ozônio é consequência da quantidade absorvida pela folha, não da concentração no ar em torno da planta (Tingey & Taylor Jr., 1982; Tingey & Andersen, 1991; Fuhrer *et al.*, 1992). Então, uma vez formado, o ozônio pode penetrar na planta através dos estômatos, onde vai reagir com os constituintes do apoplasto, gerando espécies reativas de oxigênio, que incluem peróxidos e radicais livres, as quais são, provavelmente, a causa real dos efeitos negativos do ozônio (Hippeli & Elstern, 1996).

Dentre os fatores que podem influenciar a resposta das plantas ao ozônio podemos citar os fatores climáticos, a exemplo da umidade do solo, do déficit de pressão de vapor da atmosfera, da velocidade do vento e da temperatura do ar (Krupa *et al.*, 1995; Pääkkönen *et al.*, 1997b); os métodos de cultivo (Pääkkönen *et al.*, 1995; Fuhrer, 2003), a exemplo dos níveis de nitrogênio (Calatayud *et al.*, 2006) e da disponibilidade hídrica (Tingey & Hogsett, 1985); a fase de desenvolvimento da planta (Heath, 1994; Bassin *et al.*, 2004), e a predisposição genética (Pääkkönen *et al.*, 1995, 1997a, 1997b). Segundo Heggstad (1991) e Nali *et al.* (1998), a sensibilidade ao ozônio difere entre as espécies e mesmo entre as cultivares e ecótipos, mas os mecanismos responsáveis por isto permanecem pouco compreendidos.

A duração e a dose de ozônio também afetam as respostas das plantas. É sabido que altas concentrações por períodos curtos produzem mais injúria do que uma concentração baixa por período longo, mesmo quando a dose externa resultante é similar em ambos os casos. Ocorre que os mecanismos de ação tóxica do ozônio estão ligados à produção de etileno nas folhas, que acelera o processo de abscisão foliar (Unsworth, 1987). Desse modo, as plantas expostas diariamente ao ozônio, e que produzem pouco etileno, sofrem muito menor dano que plantas expostas de forma aguda eventual, que tende a ser preponderante na maior parte das áreas rurais. A injúria pelo ozônio

não vai ocorrer se a taxa de entrada do ozônio for suficientemente pequena, de modo que seja possível a desintoxicação (feito pelo sistema antioxidante enzimático, a exemplo da catalase, superóxido dismutase e das peroxidases, ou não-enzimáticos, a exemplo dos compostos fenólicos e carotenóides) ou metabolização do ozônio ou de seus metabólitos; ou se a planta é capaz de reparar ou compensar os impactos do ozônio (U.S EPA, 1986).

2.3. Por Que Utilizar Parâmetros Fisiológicos e/ou Bioquímicos para Avaliar a Sensibilidade ao Ozônio

Seria muito útil definir as características das plantas que podem ser usadas como indicadores do seu potencial de sensibilidade à exposição ao ozônio, mas qual é o parâmetro chave ainda é uma questão aberta (Ribas *et al.*, 2005). Os fatores que determinam a sensibilidade ou tolerância das plantas ainda não estão claramente compreendidos, mas a idéia é de que estejam relacionados com fatores fisiológicos, anatômicos, bioquímicos e de ambiente (Alonso *et al.*, 2001; Pääkkönen *et al.*, 1998). Pearson *et al.* (1996) esclareceram ainda que o *ranking* de resistência relativa ao ozônio depende do critério usado na sua determinação.

No que diz respeito a plantas de feijão, foi constatado recentemente que a tolerância ao ozônio está associada com a capacidade genética de manter altas razões extracelulares de ascorbato/[ascorbato+dehidroascorbato] sob estresse ao ozônio (Burkey *et al.*, 2003).

Dentre os poucos artigos que dizem respeito da sensibilidade ao ozônio para espécies nativas e naturalizadas, a maioria está baseada, a curto prazo, na observação do desenvolvimento de sintomas visíveis e, a longo prazo, nos efeitos sobre o crescimento e esforço reprodutivo (Nebel & Fuhrer, 1994; Bungener *et al.*, 1999). Contudo, esses parâmetros nem sempre são fáceis de serem interpretados, pois eles são influenciados por vários outros fatores de ambiente e não são rápidos de serem avaliados. Além disso, eles devem ser considerados como uma evidência de uma resposta fisiológica e/ou bioquímica ao poluente (Scebba *et al.*, 2006). Não bastasse isso, os danos visíveis não necessariamente indicam a sensibilidade em termos de redução de crescimento e, portanto, talvez não tenham conseqüências ecológicas a longo prazo; sem falar que uma relação íntima entre

a aparência dos sintomas e diferentes graus de suscetibilidade ao poluente tem sido demonstrada (Guidi *et al.*, 1998; Inclan *et al.*, 1999).

De todos os processos fisiológicos afetados pelo ozônio, a fotossíntese parece ser particularmente sensível e reduções nesse processo podem ocorrer mesmo antes ou na ausência da expressão de sintomas visíveis (Guidi *et al.*, 1997; Mooney & Winner, 1988; Treshow & Anderson, 1991). Segundo Pell *et al.* (1994), o processo fotossintético pode ser afetado pela ocorrência de danos envolvendo os movimentos estomáticos, a coleta de luz ou a etapa bioquímica de fixação de CO₂ (Moraes *et al.*, 2000). A capacidade fotossintética total da planta também pode ser reduzida através da perda de folhas (senescência acelerada e/ou produção diminuída), e pelo aumento da taxa respiratória para executar funções como o reparo de constituintes celulares, ou pelo aumento da produção de certos compostos (ATP e redutores) necessários para a desintoxicação e defesa (Mooney & Winner, 1988). Já as respostas de biomassa integram as alterações fisiológicas induzidas pelo ozônio e, dessa maneira, elas podem ser usadas como um critério valioso para classificar a sensibilidade de espécies/cultivares a esse poluente (Ribas *et al.*, 2005). Por fim, o vazamento relativo de eletrólitos é uma ferramenta preciosa para avaliar o dano lipídico tão comum em condições de estresse oxidativo.

2.4. Danos Causados Pelo Ozônio na Vegetação

Diversos processos fisiológicos e bioquímicos associados com a assimilação de carbono e, desse modo, com o vigor e a produtividade das espécies vegetais, são adversamente impactados pela exposição ao ozônio. Esta exposição pode resultar em decréscimos na fotossíntese líquida (Castagna *et al.*, 2001; Kleier *et al.*, 2001), alteração da condutância estomática (Weber *et al.*, 1993), aumento na respiração (Edwards *et al.*, 1992), e mudanças na alocação de carbono entre raiz e parte aérea (Andersen & Hogsett, 1991; Friend & Tomlinson, 1992; Friend *et al.*, 1992); além de poder resultar em injúrias visíveis nas folhas, decréscimos nas taxas de crescimento e sob condições extremas, levar à morte celular (Davison & Barnes, 1998; Kleier *et al.*, 2001; Andersen, 2003; Yamaji *et al.*, 2003). Os mecanismos associados com estas respostas incluem aumento na

permeabilidade da membrana devido à peroxidação de lipídios e alterações das proteínas nas membranas biológicas, danificando ou mesmo destruindo sua estrutura e funcionalidade (Heath, 1980; Heath, 1994); decréscimo na pigmentação fotossintética (Sasek *et al.*, 1991), causado pela degradação de pigmentos cloroplásticos, especialmente da clorofila “a” (Maandre & Tuulmets, 1997); colapso das células do mesófilo da folha (Matyssek *et al.*, 1991); decréscimos na densidade de estômatos (Matyssek *et al.*, 1991), no conteúdo e atividade da ribulose-1,5-bisfosfato-carboxilase/oxigenase (rubisco) (Pell *et al.*, 1992), na capacidade de regeneração da ribulose-1,5-bisfosfato (Farage & Long, 1999) e na eficiência de carboxilação (Matyssek *et al.*, 1993; Clark *et al.*, 1995; Wedler *et al.*, 1995); estimulação da abscisão foliar (Gunthardt-Goerg *et al.*, 1993); decréscimos na retenção foliar (Miller *et al.*, 1983); alterações nas propriedades dos tilacóides reduzindo a eficiência fotoquímica do fotossistema II (Castagna *et al.*, 2001) e aumento das taxas respiratórias para executar funções como o reparo do dano de constituintes celulares ou ao aumento da produção de certos compostos necessários para a desintoxicação ou defesa (Mooney & Winner, 1988).

O decréscimo na produção de fotossintatos (seja pela redução na fotossíntese e/ou pela senescência prematura) e o aumento da demanda de carbono na parte aérea (devido à síntese de antioxidantes e reparo das membranas) reduzem a disponibilidade de carbono para alocação para outros órgãos da planta. A alteração no crescimento ou metabolismo em órgãos que não são alvo, como as raízes e caules no caso do ozônio, é considerada efeito indireto. Se o crescimento da raiz é reduzido, a planta pode estar predisposta a outros estresses ambientais, como o estresse hídrico e nutricional, o frio e predadores/parasitas. É através desse processo que o ozônio impacta o crescimento e metabolismo da planta inteira (Weber *et al.*, 1994).

Em relação ao estresse hídrico que pode ocorrer em função da alteração na alocação de carboidratos para as raízes, este ainda pode ser agravado por mais dois fatores: (1) a alteração das características originais da cera que recobre a superfície foliar e que tem a função de contribuir na proteção contra a perda de água e eletrólitos durante a transpiração, além de garantir uma superfície adequada à incidência de luz; e (2) a inativação dos estômatos, responsáveis pelo controle do fluxo

gasoso entre a região interna e externa da folha, pela morte das células-guarda que controlam o processo de abertura e fechamento estomático (Martins & Rodrigues, 2001). Esses dois processos juntos ocasionam uma redução na eficiência do uso da água (Pye, 1988; Lefohn, 1992).

Já em relação aos parasitos, sabe-se que os danos foliares causados pelo ozônio podem favorecer o desenvolvimento de doenças fúngicas, facilitando e acelerando a infecção e a produção de esporos. Esse efeito pode ocorrer mesmo que o patógeno seja sensível ao ozônio (Krause & Weidensaul, 1978), pois além do aumento da suscetibilidade da planta à infecção por efeito do poluente, fungos antagonistas são eliminados por serem, normalmente, mais sensíveis à poluição (Hibben & Taylor, 1975). Quanto aos predadores, insetos e outros artrópodes também preferem plantas fragilizadas pelos efeitos da poluição, pois estas geralmente possuem maiores conteúdos de proteínas, aminoácidos e açúcares livres em seus tecidos (Endress & Post, 1985).

O ozônio, sob baixas concentrações, produz ainda um aumento da taxa de renovação das folhas, mas, à medida que a intensidade da exposição ao ozônio aumenta, a taxa de produção de novas folhas e a densidade do dossel diminui. Isso acontece porque, sob baixas concentrações de ozônio, o aumento da perda foliar pode ser ao menos parcialmente compensado por um aumento na produção de folhas novas; porém, sob altas concentrações de ozônio, a taxa de senescência foliar aumenta em relação à de produção de novas folhas, levando a um declínio na densidade do dossel. A combinação dessas respostas produz um decréscimo retardado na densidade total do dossel, mas à custa de recursos usados para produzir novas folhas. Parte do estímulo para produzir novas folhas pode vir do aumento da disponibilidade de nutrientes minerais através da exportação a partir das folhas que estão senescendo (Reich & Lassoie, 1984).

Por fim, o ozônio pode alterar a composição da comunidade vegetal (Davison & Barnes, 1992, 1998). Nesse caso, a eliminação, direta ou por exclusão competitiva, dos indivíduos mais sensíveis pode contribuir marcadamente para a redução da variabilidade genética, deixando as populações sob severo risco frente a outros estresses. Esse risco é crescentemente grave em situações de mudanças globais, quando é maior a probabilidade de eventos ambientais causarem extinções (Martins & Rodrigues, 2001).

3. Material e Métodos

3.1. Construção e Funcionamento das Câmaras de Topo-aberto

Baseado no modelo desenvolvido por Mandl *et al.* (1973) e Heagle *et al.* (1973), e aperfeiçoado por Aidar *et al.* (2002), foram construídas duas câmaras de topo-aberto com uma estrutura metálica externa em ferro chato galvanizado (1/8 x 1') constituída de cinco anéis de 0,90 m de diâmetro. Os dois anéis inferiores foram espaçados, entre si, por 0,30 m e os demais a cada 0,12 m. Um sexto anel, de 0,40 m de diâmetro, situado na parte superior da câmara e distando 1,06 m da base da câmara produziu um estreitamento da saída dos gases. Os seis anéis foram mantidos unidos por quatro barras longitudinais.

A superfície interna da estrutura metálica foi recoberta com uma película plástica transparente em PVC flexível (200 µm de espessura). Na porção inferior da câmara, a película plástica foi dobrada em parede dupla de modo a constituir uma bolsa de ar quando inflada. Com exceção da área em frente ao duto de PVC rígido, no qual foi acoplado o exaustor, toda a parede interna da bolsa foi recoberta por 11 fileiras de orifícios de 0,5 cm de diâmetro cada, por onde passava o ar para o interior da câmara. As fileiras foram separadas, entre si, por 4,0 cm e os orifícios da mesma fileira, a cada 3,0 cm.

Para haver o suprimento de ar necessário nas câmaras, foi acoplado, na porção lateral inferior da câmara, por meio de um duto de PVC rígido (0,30 m de comprimento por 0,30 m de diâmetro), um exaustor (Arge, modelo A-300), com uma vazão aproximada de $8,0 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$. A velocidade do vento, provocado pelo fluxo de ar no interior da câmara foi mantida entre 0,5 e $1,0 \text{ m s}^{-1}$, de modo a minimizar o déficit hídrico nas plantas ocasionado por velocidades elevadas de vento (Tibbitts & Langhans, 1993).

Quanto ao ozônio, este foi produzido por efeito corona por meio de um ozonizador (OZ Engenharia, modelo GHR150B), equipado com três células de produção de O_3 e produção nominal de 85 mg h^{-1} por célula. O ozonizador foi acoplado ao duto de PVC por meio de uma tubulação em ABS e o O_3 formado foi misturado ao fluxo de ar produzido pelo exaustor. Na extremidade da

tubulação em ABS foi acoplado um pequeno tubo em PVC (40 mm de diâmetro) de modo a localizar o ponto de injeção do O_3 no centro da corrente de ar. No ponto de injeção do O_3 foi colocada uma placa plástica circular como anteparo de modo a propiciar turbulência e homogeneização da mistura de gases (Figura 1A).

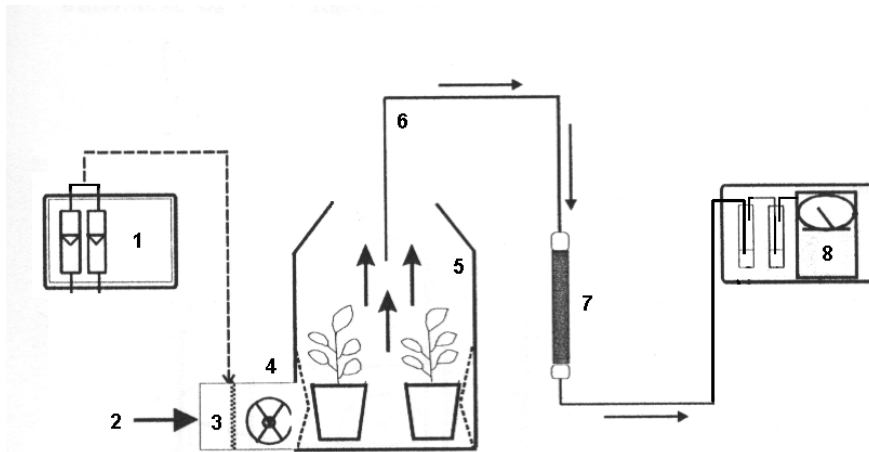


Figura 1A: Diagrama esquemático de um sistema para cultivo de plantas em atmosfera enriquecida com O_3 . 1. Ozonizador, 2. Entrada de ar para a câmara de topo-aberto, 3. Câmara de homogeneização, 4. Ventilador homogeneizador de ar, 5. Câmara de topo-aberto, 6. Tubulação para amostra de ar para medição, 7. Filtro de umidade (não instalado), 8. Amostrador atmosférico para O_3 .



Figura 1B: Local e estrutura onde foram mantidas as câmaras de topo-aberto. Observar o revestimento feito com sombrite.

3.2. Aquisição e Armazenamento das Sementes

As sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) das cultivares Fepagro 26, Guapo Brillhante, Iraí, e Macotoço foram fornecidas gentilmente pela FEPAGRO LITORAL NORTE, localizada no município de Maquiné/RS. Já as sementes da cultivar Pinto 111 foram fornecidas pelo Prof. Dr. Everaldo Gonçalves de Barros, do Departamento de Biologia Geral da Universidade Federal de Viçosa, MG. Todas as sementes, ao chegarem ao laboratório, foram acondicionadas em embalagens plásticas e mantidas em geladeira.

3.3. Condições de Cultivo

Os feijões de todas as cultivares foram semeados em garrafas plásticas de capacidade de 2 litros, cortadas a 20 cm de altura, perfuradas na base e revestidas com papel pardo. O substrato de cultivo utilizado foi preparado utilizando-se a proporção, em volume, de 2:1:1 de vermiculita (média), areia (média e lavada) e turfa, respectivamente, a qual foi previamente homogeneizada. Em cada vaso foram colocadas três sementes e antes do início da exposição, as plântulas excedentes foram retiradas ficando apenas uma plântula por vaso. Este procedimento teve como objetivo minimizar a perda de unidades experimentais.

Até o momento da exposição, as plântulas foram mantidas numa bancada do Centro de Ecologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), localizado no município de Porto Alegre – RS, sob uma malha do tipo sombrite (corte de 30% de radiação) e ao ar livre. Cada vaso foi irrigado diariamente com cerca de 100 mL de água e, um dia antes do início da exposição, cada vaso recebeu 100 mL de solução fertilizante (4 g/L do Fertilizante Nutriverde da Vitaplan – 13-13-15 + Micronutrientes).

3.4. Fumigação

Ao todo foram realizados sete eventos de fumigação (experimentos), sendo os primeiros quatro no período de dezembro de 2006 a março de 2007 e os últimos três no período de setembro a dezembro de 2007. Em todos eles, oito dias após a semeadura (estádio V₂, segundo Elagöz &

Manning 2005), as plântulas foram submetidas aos tratamentos sem e com adição de ozônio ao ar ambiente, dentro das duas câmaras de topo-aberto, situadas ao lado do Centro de Ecologia da UFRGS, dentro de um cercado de 9 m² revestido com uma malha do tipo sombrite (corte de 30% de radiação), ao ar livre (Figura 1B). O período de exposição foi sempre de uma semana, com fumigação diária das 10:00 às 16:00 horas, exceto dias de chuva.

Durante a exposição, cada câmara foi irrigada diariamente com cinco litros de água, com auxílio de um regador e, em cada um dos 7 experimentos realizados (Tabela 1), foram utilizadas 5 plântulas/tratamento/cultivar, totalizando 50 plântulas por experimento, ou seja, 25 plântulas por câmara. A disposição das plantas dentro de cada câmara foi feita através de sorteio, porém, a posição de cada planta não foi alterada durante o período da exposição. Entretanto, é importante salientar que houve rodízio das câmaras, ou seja, em cada leva de experimento foi revezada a câmara que seria ozonizada e a não ozonizada.

A concentração de O₃ no interior das câmaras foi monitorada pelo método iodométrico (APHA, 1992). A amostragem dos gases foi realizada em frasco lavador do tipo “impinger” contendo 75 mL de solução absorvedora de KI 2% com o auxílio de um amostrador de gases (LaMotte, modelo BD) a uma vazão de 1,5 L min⁻¹. O ponto de amostragem foi localizado na posição central das câmaras, com relação a seu diâmetro, e na altura das folhas primárias unifolioladas. As concentrações em cada exposição e câmara podem ser visualizadas na tabela 2. Para comparação das doses de ozônio fumigadas em cada leva de experimento foi adotado o critério previamente estabelecido pela comunidade européia de AOT₄₀ (AOT – do inglês, Accumulative Exposure Over a Threshold), que nada mais é do que o acúmulo horário sobre o valor de 40 ppb (expresso em ppb h) (Martins & Rodrigues, 2001). O conceito de AOT tem demonstrado ser a definição mais apropriada para níveis críticos de ozônio, acima da qual efeitos adversos podem ocorrer na vegetação (Fuhrer *et al.*, 1997)

Durante o período de fumigação também foram monitoradas as marchas diárias de temperatura e umidade do ar dentro da casa de vegetação, utilizando-se um *data logger* (tabela 3). Para a determinação da temperatura média diária (T_m) foi utilizada a seguinte equação:

$$T_m = \frac{T_9 + 2(T_{21}) + T_{\max} + T_{\min}}{5}$$

Onde: T_9 e T_{21} são a temperatura as 9 e 21 horas, respectivamente; T_{\max} e T_{\min} são a temperatura diária máxima e mínima, respectivamente.

Para a determinação da umidade relativa média diária (UR_m) foi utilizada a seguinte equação:

$$UR_m = \frac{UR_9 + UR_{15} + 2(UR_{21})}{4}$$

Onde: UR_9 , UR_{15} e UR_{21} são as umidades relativas às 9, 15 e 21 horas, respectivamente.

Tabela 1 – Parâmetros Avaliados em cada um dos experimentos

Experimento	Parâmetros avaliados
1	Parâmetros Fotossintéticos e Vazamento Relativo de Eletrólitos
2	Biomassa da Raiz, Parte Aérea e Total da Plântula
3	Abscisão Foliar
4	Parâmetros Fotossintéticos e Vazamento Relativo de Eletrólitos
5	Parâmetros Fotossintéticos e Vazamento Relativo de Eletrólitos
6	Biomassa da Raiz, Parte Aérea e Total da Plântula
7	Abscisão Foliar

Tabela 2 – Concentrações de Ozônio em Cada um dos Experimentos na Câmara com Fumigação

Experimento	Concentração horária de O ₃	Quantidade de horas de	Concentração máxima de O ₃
	acumulada acima de 40 ppb AOT ₄₀	exposição acima de 40 ppbv	
	ppb h	h	ppbv
1	154	18,0	59
2	209	7,5	150
3	153	23,7	52
4	587	18,0	118
5	304	6,0	91
6	147	5,4	67
7	212	24,0	60

*Na câmara controle só foi constatada a presença de O₃ nos experimentos 2 (20 ppbv) e 7 (25 ppbv).

Tabela 3 – Valores de Temperatura e Umidade para Cada um dos Experimentos

Experimento	Temperatura	Temperatura	Temperatura média	Umidade relativa
	máxima	mínima		média
	°C	°C	°C	%
1	33,8	15,4	22,1	77,7
2	37,5	14,3	24,3	70,1
3	38,7	16,3	24,0	74,0
4	38,0	17,1	23,6	82,2
5	34,7	10,7	21,9	72,0
6	31,2	16,0	19,3	84,6
7	31,9	9,5	17,9	67,4

3.5. Parâmetros Avaliados nas Plantas

3.5.1. Parâmetros Fotossintéticos

As curvas de resposta ao CO₂ (curvas A/Ci), realizadas após o término do primeiro, quarto e quinto experimentos, foram obtidas através do emprego de um analisador de gases por infravermelho (CIRAS 2, PPSsystems), com cubeta medindo 4,5 cm², radiação fotossinteticamente ativa de 800 μmol m⁻² s⁻¹, temperatura da câmara a 25 °C e umidade ajustada para 60% da umidade relativa do ar. Esta mesma quantidade de radiação foi utilizada por Guidi *et al.* (2000) como sendo de saturação para plantas de feijão da cultivar Pinto. Posteriormente à estabilização da umidade e

demais parâmetros na cubeta, foram utilizados 10 pontos para a leitura da assimilação, sendo estes pontos tomados nas seguintes concentrações de CO₂ no interior da câmara de medição: 50, 100, 200, 370, 450, 550, 650, 750 e 850 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. As medições eram iniciadas pela concentração de 370 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, que é próxima à concentração ambiente, diminuindo até 50 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, retornando à concentração de 370 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e subindo, então, até 850 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. As medições foram realizadas no período das 8 às 17 horas, sempre nas folhas primárias unifolioladas, numa sala do Centro de Ecologia da UFRGS com temperatura ambiente entre 24-26°C. Além disso, teve-se o cuidado de fazer as medições sempre aos pares, ou seja, plântulas expostas e não-expostas de uma mesma cultivar foram medidas em seqüência.

A partir dos dados extraídos das curvas A/Ci foram estimados os seguintes parâmetros:

- a) Assimilação líquida (A);
- b) Assimilação máxima (A_{max});
- c) Eficiência de carboxilação (ce)
- d) Velocidade máxima de carboxilação da rubisco (V_{cmax});
- e) Capacidade de transporte de elétrons (J_{max});
- f) Limitação estomática (L_s);
- g) Condutância estomática (g_s);
- h) Transpiração (E);
- i) Razão de CO₂ interno da folha e CO₂ ambiente (C_i/C_a);
- j) Eficiência instantânea no uso da água (WUE), e
- k) Respiração.

Para obtenção da assimilação líquida, condutância estomática, transpiração e razão C_i/C_a foi utilizado o primeiro ponto da curva A/Ci de cada planta, uma vez que, neste ponto, a concentração de CO₂ fornecida para planta é muito próxima à do ambiente (aproximadamente 350 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

A estimativa da assimilação fotossintética máxima e da eficiência da carboxilação foram obtidas a partir do ajustamento da curva A/Ci, com o auxílio do Programa STATISTICA

(versão 6.0), à equação proposta por Prado & Moraes (1997). Esta equação, apresentada abaixo, estima os valores de A_{\max} , k e $PCCO_2$.

$$A_{\max} = \frac{A}{[1 - e^{-k(Ci - PCCO_2)}]}$$

Onde:

A = assimilação líquida instantânea.

A_{\max} = assimilação líquida máxima.

k = constante de proporcionalidade associada à concavidade da curva.

Ci = concentração interna de CO_2 .

$PCCO_2$ = ponto de compensação de CO_2 .

Para se obter a eficiência de carboxilação fez-se necessário ainda utilizar a seguinte equação:

$$ce = k \cdot A_{\max} (\exp(k \cdot PCCO_2))$$

Onde:

ce = eficiência de carboxilação.

k = constante de proporcionalidade associada à concavidade da curva.

A_{\max} = assimilação líquida máxima.

$PCCO_2$ = ponto de compensação de CO_2 .

A velocidade máxima de carboxilação da rubisco, a capacidade de transporte de elétrons e a respiração foram extraídos das curvas A/Ci com o auxílio do programa *Photosynthesis Assistant versão 1.1.2* (Parsons & Ogston, 1998), que se baseia nas equações de von Caemmerer & Farquhar (1981).

A limitação estomática foi calculada a partir das curvas de resposta ao CO₂ usando a equação desenvolvida por Farquhar & Sharkey (1982), modificada por T. D. Sharkey:

$$L_s = \frac{(A_0 - A)}{A_0}$$

Onde:

A₀ = taxa de assimilação de CO₂ quando a concentração de CO₂ interno da folha (C_i) é igual a concentração de CO₂ do ambiente (C_a).

A = taxa de assimilação sob condições ambientais normais (concentração ambiental de CO₂, saturação de luz e temperatura de 25°).

Esta equação estima a limitação estomática em função da diferença de assimilação entre um momento hipotético de limitação estomática nula (A₀) e uma situação real que reflete o comportamento do estômato sob as condições ambientais de CO₂ (A). Para tanto, utilizou-se como A o primeiro ponto da curva de resposta ao CO₂ e o A₀ foi calculado a partir da substituição do C_i, na equação de Prado & Moraes (1997), pelo valor do C_a também no primeiro ponto da curva de CO₂.

A interpretação da equação se baseia no princípio que quando a concentração interna de CO₂ (C_i) é igual a concentração do ar (C_a), aproximadamente 350 μmol m⁻² s⁻¹ de CO₂, não existe limitação estomática, logo, neste momento os estômatos estão totalmente abertos.

Por fim, a eficiência instantânea no uso da água de cada planta foi calculada a partir da razão entre a assimilação fotossintética líquida e a transpiração do primeiro ponto da curva A/C_i, onde a concentração de CO₂ é próxima a da ambiente.

3.5.2. Vazamento Relativo de Eletrólitos

Para a avaliação do vazamento relativo de eletrólitos, medido após o término do primeiro, quarto e quinto experimento, foram utilizados 10 discos de 6,7 mm de diâmetro cada, extraídos das folhas primárias unifolioladas, lavados e incubados em água tri-distilada. Após 24 h de incubação a temperatura ambiente, a condutividade elétrica da solução foi medida em um condutímetro (WTW, modelo LF197). Os discos foram então congelados em nitrogênio líquido e

em seguida imersos em água tri-destilada por mais 24 h, após a qual a condutividade elétrica foi medida novamente. O vazamento relativo de eletrólitos (VRE) foi calculado de acordo com a seguinte equação:

$$VRE (\%) = \left(\frac{C_1}{C_1 + C_2} \right) \cdot 100$$

Onde:

C_1 = condutividade medida nas primeiras 24 h,

C_2 = condutividade medida nas 24 h seguintes.

3.5.3. *Abscisão Foliar*

A abscisão foliar, avaliada no terceiro e no sétimo experimento, foi calculada a partir da média do número de dias, após o surgimento, que as duas folhas primárias unifolioladas levaram para cair.

3.5.4. *Acúmulo de Massa Seca*

A biomassa de cada planta, tanto do segundo quanto do sexto experimento, foi separada em parte aérea e raízes, lavadas em água corrente, secas em estufa por sete dias à 60°C e pesadas em balança semi-analítica (Sartorius, 2006 MP).

3.5.5. *Análise Estatística*

Os dados obtidos foram analisados no programa estatístico Sigmastat (SPSS Institute Inc., version 2.03) através do Teste-t. Quando os dados não apresentaram homogeneidade de variâncias e normalidade de distribuição (requisitos necessários para a aplicação desta análise), foi realizado o teste não paramétrico de Mann-Whitney. Adotou-se como critério de significância valores de $\alpha \leq 0,05$ e considerou-se como tendência $\alpha \leq 0,10$.

4. Resultados

4.1. Parâmetros Fotossintéticos e Vazamento Relativo de Eletrólitos

Os parâmetros fotossintéticos e o vazamento relativo de eletrólitos foram avaliados no primeiro, no quarto e no quinto experimento. No primeiro, que teve uma AOT₄₀ de aproximadamente 154 ppb h, a exposição ao ozônio causou uma redução significativa na assimilação líquida das cultivares Guapo, Fepagro e Macotaço ($p = 0,005$; $0,038$ e $0,046$, respectivamente) (Figura 2A). No quarto experimento, com AOT₄₀ de cerca de 587 ppb h, a exposição ao ozônio não causou decréscimos significativos na assimilação líquida de nenhuma cultivar, apesar de uma tendência ter sido constatada para as cultivares Fepagro e Guapo ($p = 0,076$ e $0,090$, respectivamente) (Figura 2B) e de ter ocorrido uma antecipação da senescência das folhas primárias no tratamento com O₃, que culminou na abscisão foliar, antes mesmo de ser realizada as medições das curvas A/Ci, em quatro das cinco plântulas da cultivar Pinto e em uma plântula das cultivares Iraí, Fepagro e Macotaço. No quinto experimento, com AOT₄₀ de aproximadamente 304 ppb h, ocorreu uma redução significativa na assimilação líquida das cultivares Fepagro e Pinto e uma tendência à redução na cultivar Iraí ($p = 0,004$, $0,006$ e $0,084$, respectivamente) (Figura 2C).

A redução na assimilação líquida ocorrida no primeiro experimento, em virtude da exposição ao ozônio, na cultivar Guapo ocorreu concomitantemente com uma redução significativa na eficiência de carboxilação ($p = 0,016$) (Figura 4A), uma redução significativa na velocidade máxima de carboxilação da rubisco ($p = 0,045$) (Figura 5A), uma tendência de redução na capacidade de transporte de elétrons ($p = 0,079$) (Figura 6A) e um aumento significativo na razão Ci/Ca ($p = 0,020$) (Figura 11A). Na cultivar Fepagro, a redução da assimilação líquida nesse primeiro experimento ocorreu juntamente com uma tendência de redução da assimilação máxima (p

= 0,086) (Figura 3A), uma tendência de redução na eficiência de carboxilação ($p = 0,069$) (Figura 4A), uma redução significativa na velocidade máxima de carboxilação da rubisco ($p = 0,011$) (Figura 5A), uma tendência de redução na capacidade de transporte de elétrons ($p = 0,068$) (Figura 6A) e um aumento significativo na razão C_i/C_a ($p = 0,005$) (Figura 11A). Já o decréscimo na assimilação líquida ocorrida nesse experimento na cultivar Macotaço foi acompanhado apenas por uma forte tendência de redução na eficiência de carboxilação ($p = 0,053$) (Figura 4A).

Ainda com relação ao primeiro experimento, a média da limitação estomática, com exceção da cultivar Iraí, foi maior nas plantas controle, porém, diferença significativa para este parâmetro só foi encontrada na cultivar Fepagro ($p = 0,041$) e uma tendência para a cultivar Guapo ($p = 0,057$) (Figura 8A). Concomitantemente com essa menor limitação estomática, nas plantas expostas das cultivares Fepagro e Guapo ocorreu uma menor eficiência no uso da água ($p = 0,013$ e $0,032$, respectivamente) (Figura 12A). Quanto à condutância estomática (Figura 9A), transpiração (Figura 10A), respiração (Figura 7A) e ao vazamento relativo de eletrólitos (Figura 13A), estes não apresentaram diferenças significativas entre os dois tratamentos para nenhuma das cultivares avaliadas

No quarto experimento, a tendência de redução na assimilação líquida na cultivar Fepagro exposta ao ozônio foi acompanhada apenas por um decréscimo significativo na eficiência de carboxilação ($p = 0,032$) (Figura 4B). Na cultivar Guapo, que também apresentou uma tendência de redução na assimilação líquida, não foi constatada diferença significativa ou tendência para nenhum outro parâmetro avaliado neste experimento. Também não foi constatada diferença significativa na limitação estomática entre os dois tratamentos para nenhuma das cultivares avaliadas (Figura 8B), porém, a cultivar Iraí apresentou uma tendência de redução na eficiência no uso da água ($p = 0,051$), a qual foi acompanhada por uma tendência de aumento na transpiração (Figura 12B e 10B, respectivamente). Em relação à assimilação máxima, à velocidade máxima de carboxilação da rubisco, à capacidade de transporte de elétrons, à condutância estomática e à razão C_i/C_a não houve diferença significativa entre tratamentos para nenhuma cultivar (Figura 3B, 5B, 6B, 9B e 11B, respectivamente). Já a respiração apresentou diferença significativa apenas para a

cultivar Iraí, sendo que as plantas expostas apresentaram taxas de respiração mais elevadas em relação às controles ($p = 0,030$) (Figura 7B). Por fim, o vazamento relativo de eletrólitos apresentou um aumento significativo na cultivar Pinto ($p = 0,028$) e uma tendência de aumento na cultivar Macotaço ($p = 0,061$) nas plantas expostas ao ozônio (Figura 13B).

No quinto e último experimento que avaliou parâmetros fotossintéticos, a redução significativa na assimilação líquida ocorrida na cultivar Pinto, e a tendência de redução na cultivar Iraí sob condições de estresse por ozônio, ocorreu juntamente com uma redução significativa na assimilação máxima nas cultivares Pinto e Iraí ($p = <0,001$ e $0,048$, respectivamente). Apesar da cultivar Macotaço não apresentar alterações significativas na assimilação líquida quando submetida ao estresse por ozônio ($p = 0,106$), houve uma tendência de redução na assimilação máxima desta cultivar ($p = 0,060$) (Figura 3C). Também foi constatada nas plantas expostas ao ozônio da cultivar Pinto uma tendência de redução na eficiência de carboxilação ($p = 0,055$) (Figura 4C), uma redução significativa na velocidade máxima de carboxilação da rubisco ($p = 0,009$) (Figura 5C); uma redução significativa na capacidade de transporte de elétrons ($p = 0,006$) (Figura 6C); uma tendência de aumento no vazamento relativo de eletrólitos ($p = 0,056$) (Figura 13C); além de uma tendência de redução da condutância estomática ($p = 0,073$) (Figura 9C), e da transpiração ($p = 0,056$) (Figura 10C) e de uma tendência de aumento da razão C_i/C_a ($p = 0,076$) (Figura 11C). Já a redução na assimilação líquida ocorrida nas plantas da cultivar Fepagro quando expostas ao ozônio foi acompanhada apenas por uma leve tendência de redução na capacidade de transporte de elétrons ($p = 0,103$) (Figura 6C) e por uma redução significativa na condutância estomática e na transpiração ($p < 0,001$ para ambas) (Figura 9C e 10C, respectivamente). Novamente neste experimento, a limitação estomática foi maior nas plantas controles, sendo que a cultivar Pinto apresentou decréscimo significativo para este parâmetro ($p = 0,009$) quando submetida a estresse por ozônio, e as cultivares Iraí e Fepagro apresentaram tendências de redução ($p = 0,065$ e $0,099$, respectivamente) (Figura 8C). Por consequência dessa diminuição na limitação estomática nas plantas expostas da cultivar Pinto, foi constatado também um decréscimo significativo na eficiência no uso da água para esta cultivar ($p = 0,045$) (Figura 12C). Quanto à respiração, curiosamente esta

apresentou uma redução significativa nas plantas expostas da cultivar Pinto ($p = 0,050$), sendo que as demais cultivares não diferiram em relação a este parâmetro (Figura 7C).

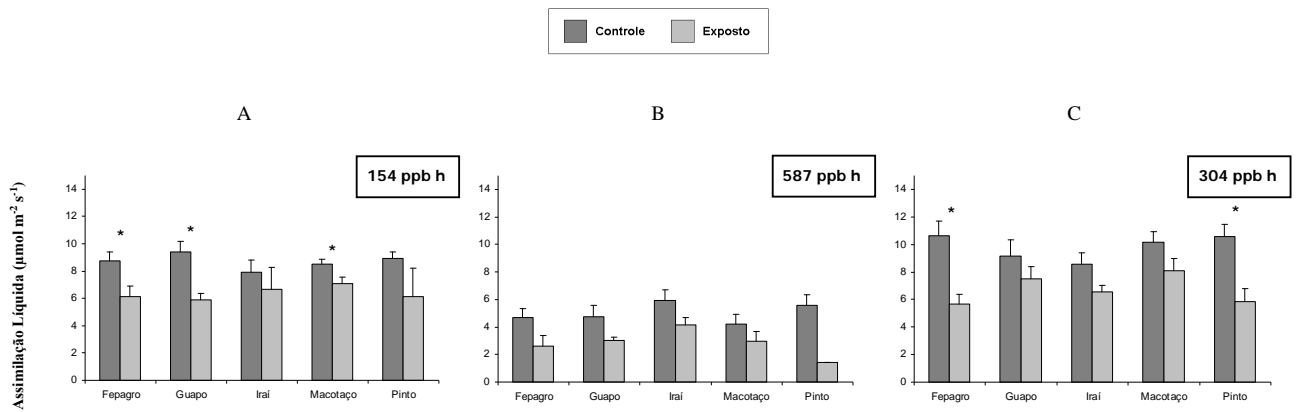


Figura 2: Assimilação líquida de plântulas de feijão de cinco cultivares diferentes expostas ou não à atmosfera enriquecida com ozônio. (A) Experimento 1; (B) Experimento 4; (C) Experimento 5. Os asteriscos indicam diferenças significativas, ao nível de 5% de significância, entre os tratamentos. As barras verticais indicam o erro padrão da média. No retângulo no canto superior direito situa-se a AOT₄₀ das plantas expostas.

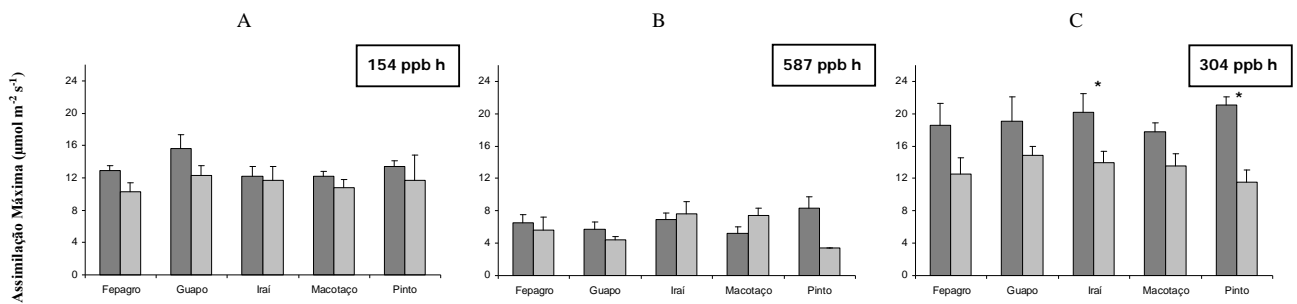


Figura 3: Assimilação máxima de plântulas de feijão de cinco cultivares diferentes expostas ou não à atmosfera enriquecida com ozônio. (A) Experimento 1; (B) Experimento 4; (C) Experimento 5. Os asteriscos indicam diferenças significativas, ao nível de 5% de significância, entre os tratamentos. As barras verticais indicam o erro padrão da média. No retângulo no canto superior direito situa-se a AOT₄₀ das plantas expostas.

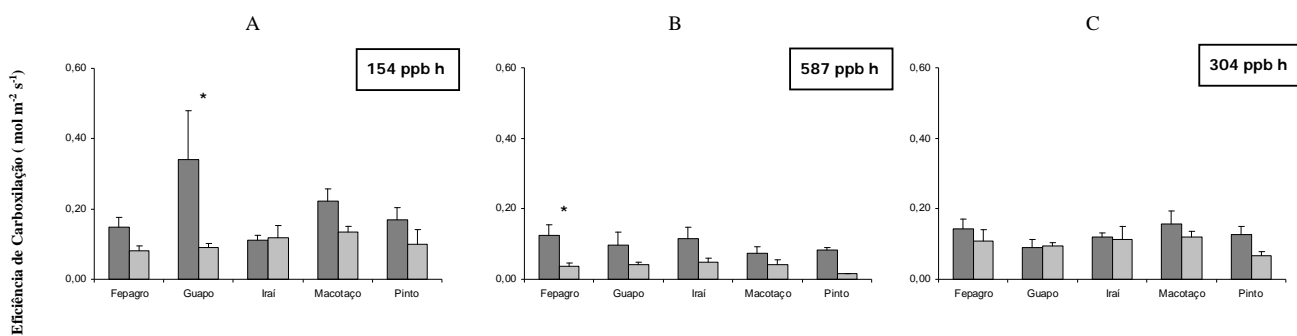


Figura 4: Eficiência de carboxilação de plântulas de feijão de cinco cultivares diferentes expostas ou não à atmosfera enriquecida com ozônio. (A) Experimento 1; (B) Experimento 4; (C) Experimento 5. Os asteriscos indicam diferenças significativas, ao nível de 5% de significância, entre os tratamentos. As barras verticais indicam o erro padrão da média. No retângulo no canto superior direito situa-se a AOT₄₀ das plantas expostas.

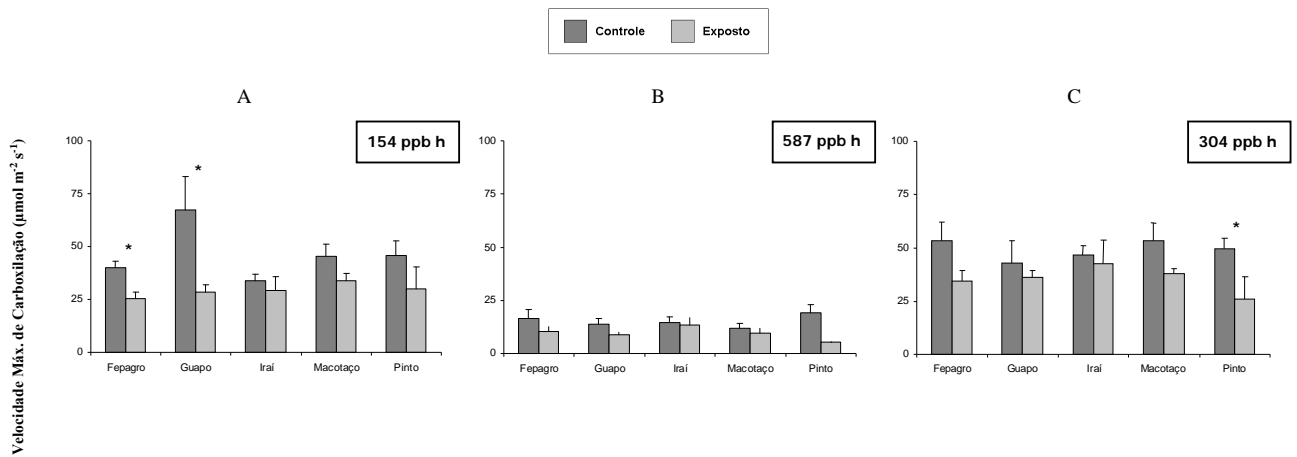


Figura 5: Velocidade máxima de carboxilação de plântulas de feijão de cinco cultivares diferentes expostas ou não à atmosfera enriquecida com ozônio. (A) Experimento 1; (B) Experimento 4; (C) Experimento 5. Os asteriscos indicam diferenças significativas, ao nível de 5% de significância, entre os tratamentos. As barras verticais indicam o erro padrão da média. No retângulo no canto superior direito situa-se a AOT_{40} das plantas expostas.

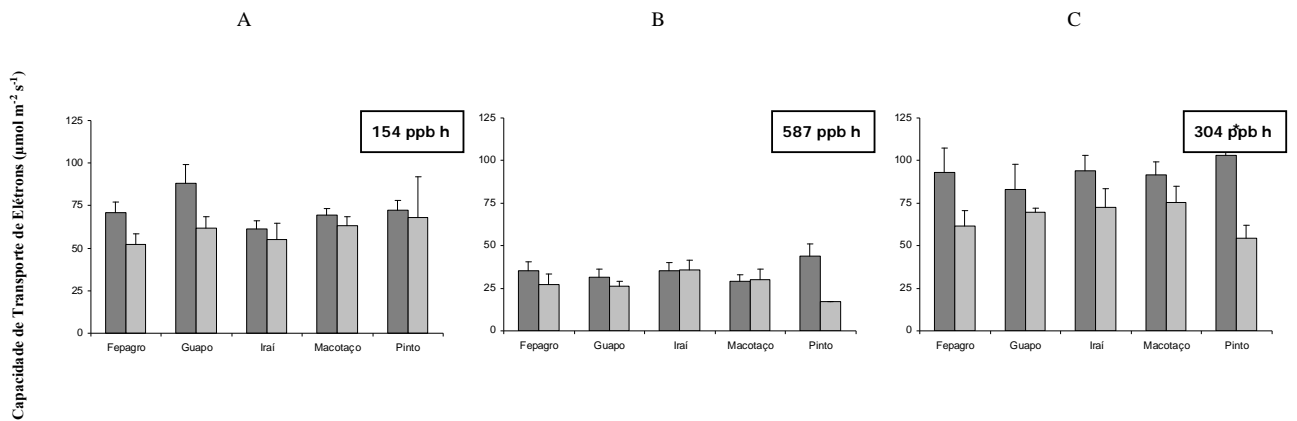


Figura 6: Capacidade de transporte de elétrons de plântulas de feijão de cinco cultivares diferentes expostas ou não à atmosfera enriquecida com ozônio. (A) Experimento 1; (B) Experimento 4; (C) Experimento 5. Os asteriscos indicam diferenças significativas, ao nível de 5% de significância, entre os tratamentos. As barras verticais indicam o erro padrão da média. No retângulo no canto superior direito situa-se a AOT_{40} das plantas expostas.

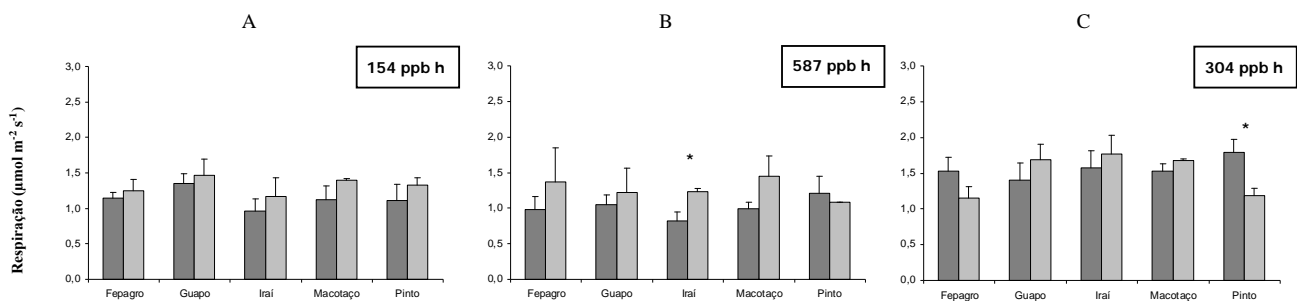


Figura 7: Respiração de plântulas de feijão de cinco cultivares diferentes expostas ou não à atmosfera enriquecida com ozônio. (A) Experimento 1; (B) Experimento 4; (C) Experimento 5. Os asteriscos indicam diferenças significativas, ao nível de 5% de significância, entre os tratamentos. As barras verticais indicam o erro padrão da média. No retângulo no canto superior direito situa-se a AOT_{40} das plantas expostas.

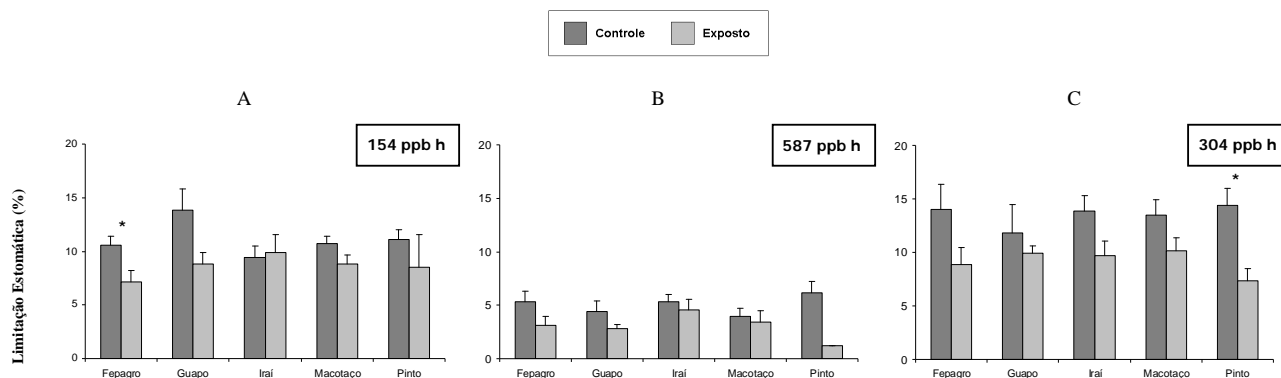


Figura 8: Limitação estomática de plântulas de feijão de cinco cultivares diferentes expostas ou não à atmosfera enriquecida com ozônio. (A) Experimento 1; (B) Experimento 4; (C) Experimento 5. Os asteriscos indicam diferenças significativas, ao nível de 5% de significância, entre os tratamentos. As barras verticais indicam o erro padrão da média. No retângulo no canto superior direito situa-se a AOT₄₀ das plantas expostas.

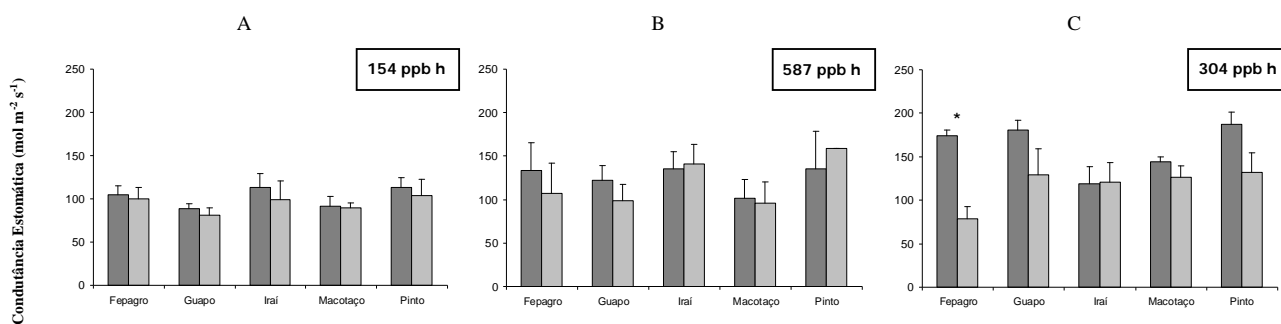


Figura 9: Condutância estomática de plântulas de feijão de cinco cultivares diferentes expostas ou não à atmosfera enriquecida com ozônio. (A) Experimento 1; (B) Experimento 4; (C) Experimento 5. Os asteriscos indicam diferenças significativas, ao nível de 5% de significância, entre os tratamentos. As barras verticais indicam o erro padrão da média. No retângulo no canto superior direito situa-se a AOT₄₀ das plantas expostas.

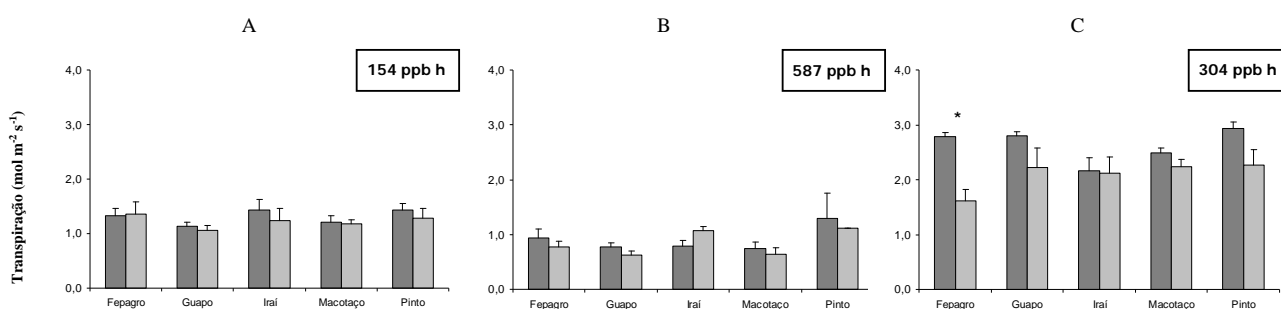


Figura 10: Transpiração de plântulas de feijão de cinco cultivares diferentes expostas ou não à atmosfera enriquecida com ozônio. (A) Experimento 1; (B) Experimento 4; (C) Experimento 5. Os asteriscos indicam diferenças significativas, ao nível de 5% de significância, entre os tratamentos. As barras verticais indicam o erro padrão da média. No retângulo no canto superior direito situa-se a AOT₄₀ das plantas expostas.

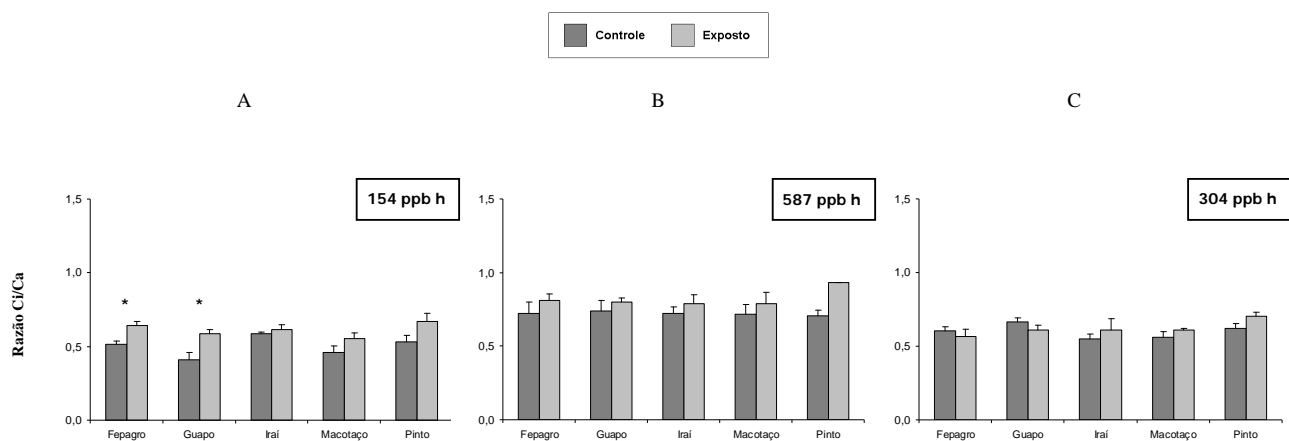


Figura 11: Razão Ci/Ca de plântulas de feijão de cinco cultivares diferentes expostas ou não à atmosfera enriquecida com ozônio. (A) Experimento 1; (B) Experimento 4; (C) Experimento 5. Os asteriscos indicam diferenças significativas, ao nível de 5% de significância, entre os tratamentos. As barras verticais indicam o erro padrão da média. No retângulo no canto superior direito situa-se a AOT₄₀ das plantas expostas.

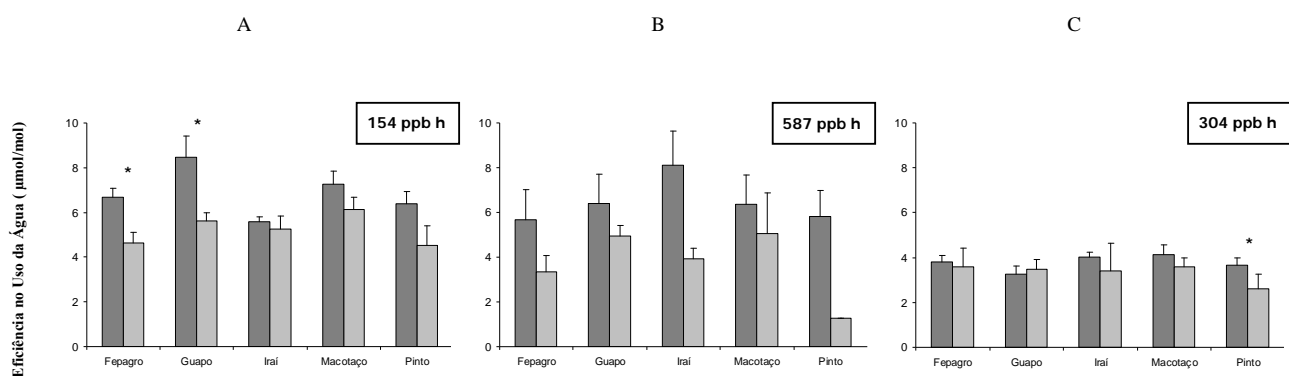


Figura 12: Eficiência no uso da água de plântulas de feijão de cinco cultivares diferentes expostas ou não à atmosfera enriquecida com ozônio. (A) Experimento 1; (B) Experimento 4; (C) Experimento 5. Os asteriscos indicam diferenças significativas, ao nível de 5% de significância, entre os tratamentos. As barras verticais indicam o erro padrão da média. No retângulo no canto superior direito situa-se a AOT₄₀ das plantas expostas.

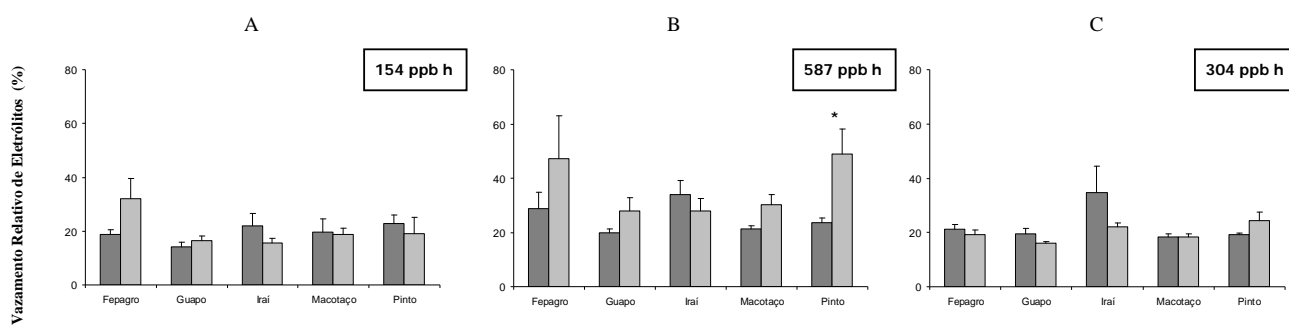


Figura 13: Vazamento relativo de eletrólitos de plântulas de feijão de cinco cultivares diferentes expostas ou não à atmosfera enriquecida com ozônio. (A) Experimento 1; (B) Experimento 4; (C) Experimento 5. Os asteriscos indicam diferenças significativas, ao nível de 5% de significância, entre os tratamentos. As barras verticais indicam o erro padrão da média. No retângulo no canto superior direito situa-se a AOT₄₀ das plantas expostas.

4.2. Abscisão Foliar

A abscisão foliar foi monitorada no terceiro e no sétimo experimento. No terceiro, que teve uma AOT₄₀ de aproximadamente 153 ppb h, a exposição ao ozônio antecipou, em média, a abscisão das folhas primárias da cultivar Pinto em 11 dias ($p = <0,001$), e da cultivar Fepagro em 7 dias ($p = 0,004$), além de apresentar uma tendência de antecipação de 5 dias na cultivar Guapo ($p = 0,090$). Os cultivares Iraí e Macotaço não apresentaram diferenças no tempo de abscisão das folhas primárias expostas ao ozônio em relação às plantas controle neste experimento (Figura 14A).

Já no sétimo experimento a AOT₄₀ foi de cerca de 212 ppb h, e embora a dose horária de ozônio acima de 40 ppb tenha sido superior nesse experimento em relação ao terceiro, a exposição ao ozônio antecipou, em média, a abscisão das folhas primárias da cultivar Guapo em apenas 3 dias ($p = 0,004$), além de apresentar uma forte tendência de antecipação de aproximadamente 4 dias na cultivar Fepagro ($p = 0,051$). As demais cultivares (Pinto, Iraí e Macotaço) não apresentaram diferença estatística no tempo de abscisão foliar entre plantas expostas e não-expostas (Figura 14B).

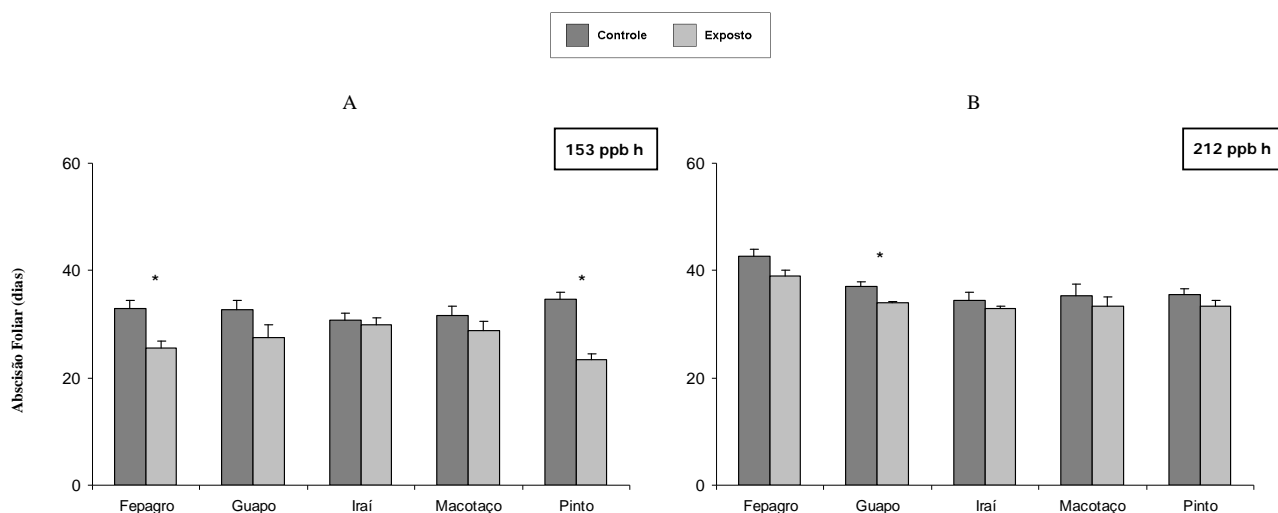


Figura 14: Abscisão Foliar de plântulas de feijão de cinco cultivares diferentes expostas ou não à atmosfera enriquecida com ozônio. (A) Experimento 3; (B) Experimento 7. Os asteriscos indicam diferenças significativas, ao nível de 5% de significância, entre os tratamentos. As barras verticais indicam o erro padrão da média. No retângulo no canto superior direito situa-se a AOT₄₀ das plantas expostas.

4.3. Acúmulo de Massa Seca

O acúmulo de massa seca, tanto da raiz quanto da parte aérea e total da planta foram avaliados no segundo e no sexto experimento. No segundo, que teve uma AOT₄₀ de aproximadamente 209 ppb h, o tratamento com ozônio causou uma tendência de diminuição nestes três parâmetros apenas nas cultivares Iraí ($p = 0,079$; $0,056$ e $0,056$, respectivamente) e Fepagro ($p = 0,084$; $0,085$ e $0,084$, respectivamente). As demais cultivares não apresentaram diferenças entre os dois tratamentos neste experimento para nenhum dos três parâmetros avaliados (Figura 15A, 16A e 17A).

No sexto experimento, a exposição à aproximadamente 147 ppb h, porém, causou um aumento significativo na biomassa da raiz nas plantas expostas ao ozônio da cultivar Iraí ($p = 0,026$) e uma diminuição significativa, neste mesmo parâmetro, na cultivar Macotaço ($p = 0,020$) (Figura 15B). Não foi constatada diferença significativa e/ou tendência de diferença entre os tratamentos para nenhuma das cultivares em relação à biomassa da parte aérea (Figura 16B), e com exceção da cultivar Iraí, que apresentou uma pequena tendência de aumento de biomassa total da plântula quando exposta ao ozônio ($p = 0,098$), nenhuma outra diferença significativa e/ou tendência de diferença foi encontrada para este parâmetro (Figura 17B).

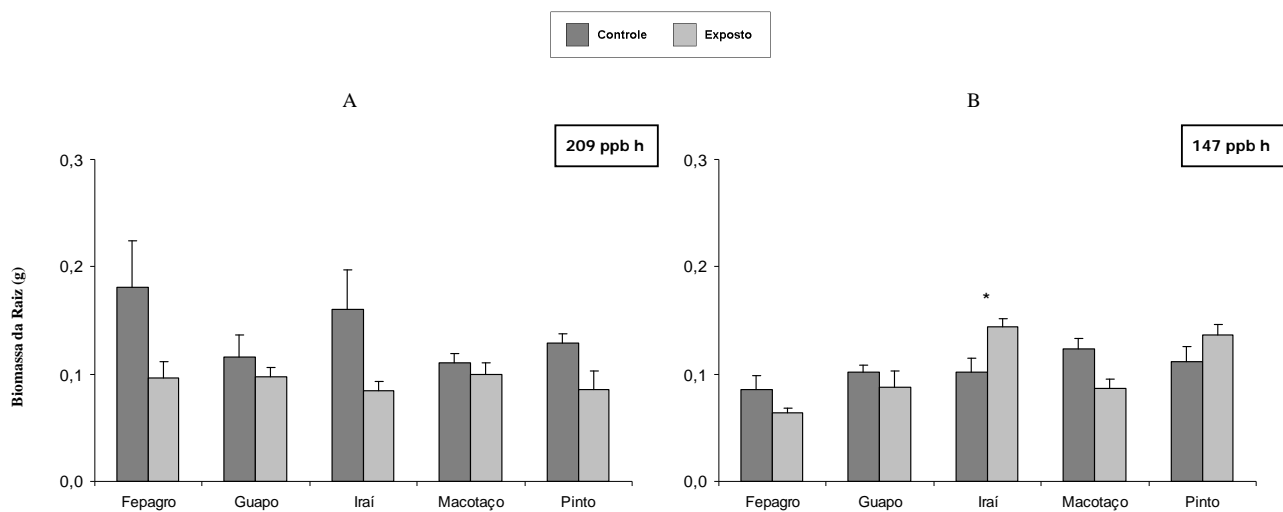


Figura 15: Biomassa da raiz de plântulas de feijão de cinco cultivares diferentes expostas ou não à atmosfera enriquecida com ozônio. (A) Experimento 2; (B) Experimento 6. Os asteriscos indicam diferenças significativas, ao nível de 5% de significância, entre os tratamentos. As barras verticais indicam o erro padrão da média. No retângulo no canto superior direito situa-se a AOT₄₀ das plantas expostas.

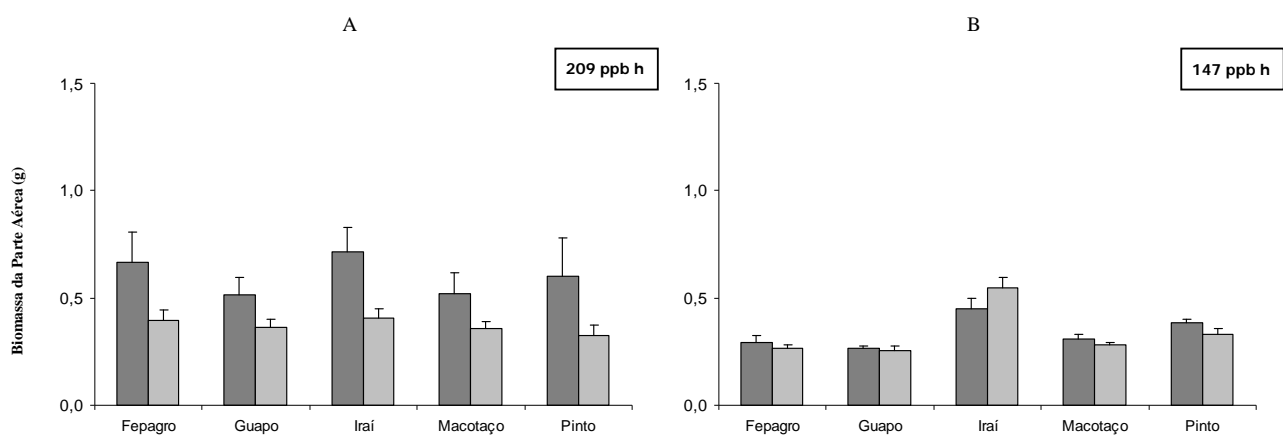


Figura 16: Biomassa da parte aérea de plântulas de feijão de cinco cultivares diferentes expostas ou não à atmosfera enriquecida com ozônio. (A) Experimento 2; (B) Experimento 6. Os asteriscos indicam diferenças significativas, ao nível de 5% de significância, entre os tratamentos. As barras verticais indicam o erro padrão da média. No retângulo no canto superior direito situa-se a AOT₄₀ das plantas expostas.

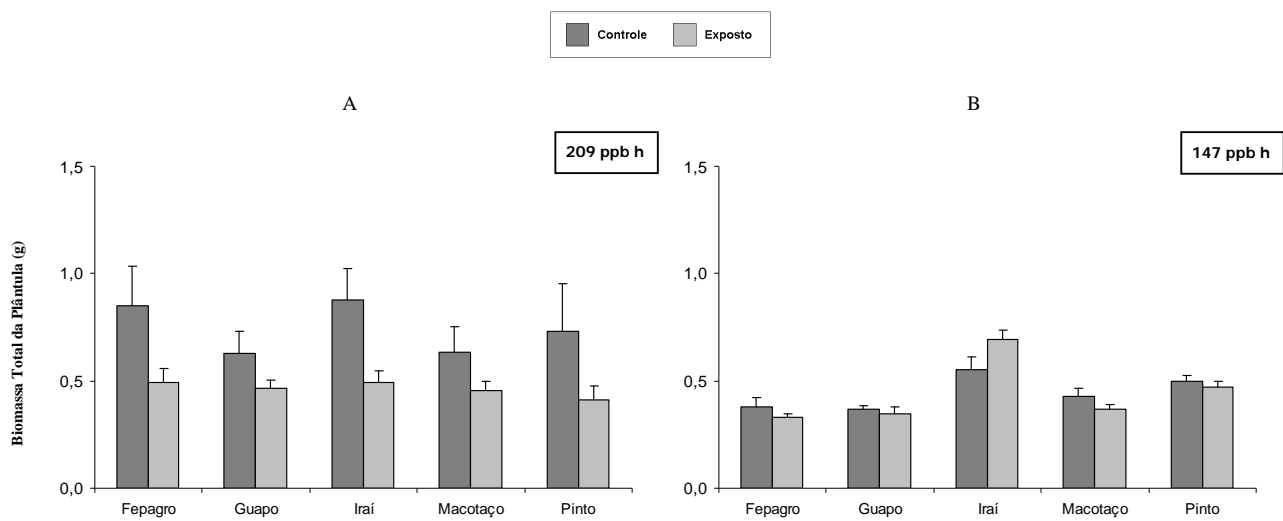


Figura 17: Biomassa total de plântulas de feijão de cinco cultivares diferentes expostas ou não à atmosfera enriquecida com ozônio. (A) Experimento 2; (B) Experimento 6. Os asteriscos indicam diferenças significativas, ao nível de 5% de significância, entre os tratamentos. As barras verticais indicam o erro padrão da média. No retângulo no canto superior direito situa-se a AOT₄₀ das plantas expostas.

5. Resultados

Os valores médios da assimilação líquida de todas as cultivares, tanto para plantas expostas quanto para as controles ficaram acima dos encontrados por Guidi *et al.* (2000) em seu experimento com feijão da cultivar Pinto, que encontrou valores de assimilação de $5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para as plantas controles e de $3,64 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para plantas expostas ao ozônio (150 ppb por 2 horas). Exceção se fez ao experimento 4, que teve valores, em geral, um pouco mais baixos, embora bem semelhantes com os do Guidi *et al.* (2000). Já os valores da média da velocidade máxima de carboxilação da rubisco e da capacidade de transporte de elétrons ficaram na faixa dos valores encontrados para *Phaseolus vulgaris* na revisão feita por Wullschleger (1993). Exceção se fez novamente no experimento 4, no qual se constatou valores mais baixos para esses dois parâmetros.

Sabendo-se que a fotossíntese líquida sofre forte efeito do ambiente, os baixos valores de fotossíntese encontrados no experimento 4, que foi realizado no mês de Março de 2007, podem, pelo menos parcialmente, serem explicados pelas temperaturas elevadas associadas com baixa intensidade luminosa. A baixa intensidade luminosa durante essa leva de experimento ocorreu pela menor obliquidade dos raios solares, a qual foi agravada pela existência de um prédio que bloqueava a passagem da luz na maior parte do dia em função da época do ano em que nos encontrávamos.

Na cultivar Fepagro a assimilação líquida foi reduzida pela exposição ao O_3 no experimento 1 (154 ppb h de O_3) e 5 (304 ppb h de O_3), enquanto no experimento 4 (587 ppb h de O_3) houve apenas uma tendência de redução nesse parâmetro. No primeiro experimento, essa redução foi ocasionada pela limitação no processo de carboxilação (redução significativa na velocidade máxima de carboxilação da rubisco e tendência à redução na eficiência de carboxilação) e pela disponibilidade de RuBP (tendência de redução na capacidade de transporte de elétrons).

Embora a condutância estomática e a transpiração não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos, houve uma redução significativa na limitação estomática e, conseqüentemente, na eficiência do uso da água, enquanto que a razão C_i/C_a aumentou significativamente. Já a assimilação máxima teve uma tendência à redução em virtude das limitações no processo de carboxilação e pela disponibilidade de RuBP. No quinto experimento, a redução significativa na assimilação líquida foi acompanhada por uma redução significativa na condutância estomática, a qual causou uma redução significativa na transpiração. Porém, a limitação estomática teve uma tendência à redução nas plantas expostas, o que indica que a entrada de CO_2 para dentro das folhas não foi o fator limitante. Além disso, a razão C_i/C_a e a respiração não apresentaram diferenças entre os tratamentos, o que colabora com a idéia de que a limitação da fotossíntese não está na entrada de CO_2 e sim, na tendência de redução na capacidade de transporte de elétrons. No quarto experimento, embora a AOT_{40} tenha sido mais elevada, houve apenas uma tendência de redução na assimilação líquida dessa cultivar, causada por uma redução significativa na eficiência de carboxilação. A velocidade máxima de carboxilação não apresentou diferença significativa nem tendência à diferença entre os tratamentos nesse experimento.

Na cultivar Guapo a assimilação líquida foi reduzida significativamente apenas no experimento 1. No quarto experimento houve apenas uma tendência de redução na assimilação sem alterações dos demais parâmetros avaliados e, no quinto, nem mesmo a assimilação líquida foi alterada pela exposição ao ozônio. A redução da assimilação líquida no experimento 1 foi ocasionada pela limitação no processo de carboxilação (redução significativa na velocidade máxima de carboxilação da rubisco e da eficiência de carboxilação) e pela disponibilidade de RuBP (tendência de redução na capacidade de transporte de elétrons). Embora a condutância estomática e a transpiração não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos, houve uma tendência à redução na limitação estomática e uma redução significativa na eficiência do uso da água, enquanto que a razão C_i/C_a aumentou significativamente.

Na cultivar Iraí a assimilação líquida não foi reduzida significativamente em nenhum dos três experimentos realizados, e os únicos parâmetros que se alteraram significativamente foi a

respiração no experimento 4, que aumentou nas plantas expostas ao ozônio; e a assimilação máxima no experimento 5, que foi reduzida nas plantas expostas.

Na cultivar Macotaço, a assimilação líquida foi reduzida significativamente apenas no experimento 1, sendo que esta foi causada por uma tendência de redução na eficiência de carboxilação sem alteração concomitante na velocidade máxima de carboxilação.

Por fim, a cultivar Pinto não apresentou diferença significativa na assimilação líquida e em nenhum outro parâmetro fotossintético avaliado no experimento 1, que teve a menor AOT_{40} . Com uma AOT intermediária (experimento 5), a assimilação líquida foi reduzida significativamente e com uma concentração mais elevada (experimento 4) houve a abscisão foliar em 4 das 5 plântulas (expostas) antes mesmo da assimilação ser medida, sendo constatado apenas aumento significativo no vazamento relativo de eletrólitos, já que não pode ser realizada análise estatística. A redução da assimilação líquida no experimento 5 pode ser atribuída a uma limitação no processo de carboxilação (redução significativa na velocidade máxima de carboxilação da rubisco e à tendência de redução na eficiência de carboxilação) e pela disponibilidade de RuBP (redução significativa na capacidade de transporte de elétrons). Embora a condutância estomática tenha apresentado uma tendência à redução, que refletiu numa tendência de redução concomitante da transpiração, houve uma redução significativa na limitação estomática e na eficiência do uso da água. A redução significativa na limitação estomática, a tendência de aumento na razão C_i/C_a e a redução significativa na respiração indicam que a entrada de CO_2 na folha não foi o fator limitante da fotossíntese.

A redução na limitação estomática na cultivar Fepagro (experimento 1) e na cultivar Pinto (experimento 5) e a tendência à redução na limitação estomática na cultivar Fepagro (experimento 5) e na cultivar Guapo (experimento 1) está relacionada diretamente com a limitação no processo de carboxilação (quantidade e atividade da rubisco), pois vai gerar uma menor diferença entre a assimilação líquida de C_i ₃₅₀ e C_a ₃₅₀ nas plantas expostas. Já a redução na eficiência do uso da água para essas mesmas cultivares e experimentos (exceto cultivar Fepagro - experimento 5, que não apresentou alterações na eficiência do uso da água quando exposta ao

ozônio) foi conseqüência de uma redução significativa na fotossíntese sem redução concomitante na transpiração. Na cultivar Pinto (experimento 5), embora tenha havido uma tendência à redução na transpiração, ela não ocorreu na mesma proporção do decréscimo na assimilação, o que justifica a redução significativa na eficiência do uso da água para essa cultivar.

O aumento significativo da razão C_i/C_a na cultivar Fepagro (experimento 1) e Guapo (experimento 1), e a tendência de aumento dessa mesma razão na cultivar Pinto (experimento 5) são conseqüências da redução significativa na velocidade máxima de carboxilação da rubisco e da redução (cultivar Guapo) ou tendência à redução (cultivares Fepagro e Pinto) da eficiência de carboxilação que, por sua vez, causam redução no uso de CO_2 , fazendo com que ele se acumule dentro das folhas e desse modo, podendo causar inclusive o fechamento estomático. É por isso que a redução significativa da condutância estomática na cultivar Fepagro (experimento 5) e a tendência de redução na cultivar Pinto (experimento 5) não causaram aumento na limitação estomática. Quanto à respiração, esta não pode estar envolvida com o aumento da razão C_i/C_a , pois a concentração de CO_2 respirada é muito pequena em relação ao que é assimilado, e até mesmo porque não foi constatada diferença significativa entre os tratamentos para esse parâmetro nas cultivares Fepagro e Guapo (experimento 1), e na cultivar Pinto (experimento 5) houve uma redução significativa na respiração.

A redução na assimilação líquida é frequentemente o primeiro sintoma detectável observado em plantas tratadas com ozônio (Reichenauer *et al.*, 1998). Decréscimos na assimilação líquida causada pela exposição ao ozônio também foram relatadas por Plazek *et al.* (2000) em *Festuca pratensis* (Hud.) cv. Skra, *Hordeum vulgare* (L.) cv. Mobek e *Brassica napus* (L.) var. oleifera cv. Górczanski; Hassan (2004) em *Triticum aestivum* L. cv. Giza 63; Inclán *et al.* (1998), em plantas *Pinus halepensis* Mill; Moraes *et al.* (2006), em plantas de *Caesalpinia echinata* Lam.; Anderson *et al.* (1997), em plantas de *Pinus ponderosa* Laws.

Dentre os parâmetros mais associados com o decréscimo na assimilação líquida nesse estudo estão a velocidade máxima de carboxilação da rubisco, que apresentou reduções significativas na Fepagro (experimento 1), Guapo (experimento 1) e Pinto (experimento 5), e a

eficiência de carboxilação, que apresentou reduções significativas nas cultivares Fepagro (experimento 4) e Guapo (experimento 1) e tendências à redução nas cultivares Fepagro (experimento 1), Macotaço (experimento 1) e Pinto (experimento 5). Tanto a velocidade máxima de carboxilação da rubisco, como eficiência de carboxilação refletem a atividade da rubisco *in vivo* (Sage, 1994; Rogers & Humphries, 2000), sendo que reduções na carboxilação foram consideradas as principais responsáveis pelos prejuízos na fotossíntese por Pell *et al.* (1994), Guidi *et al.* (2001) e Calatayud *et al.* (2002).

Guidi *et al.* (2000), ao trabalharem com plantas de feijão da cultivar Pinto também encontraram resultados que estão de acordo com a idéia de que o alvo primário do ozônio são as enzimas envolvidas no ciclo de Calvin e em particular da atividade da rubisco. A inibição da rubisco induz a uma menor utilização de NADPH e ATP e isso, em consequência, causa uma redução na atividade do sistema de transporte de elétrons e um aumento na proporção de centros de reação fechados do Fotossistema II. Centros de reação fechados possuem, por sua vez, um estado maior de redução em QA (Quinona A), o que pode aumentar a suscetibilidade das plantas à fotoinibição.

Nesse trabalho, a capacidade de transporte de elétrons, que apresentou redução significativa apenas na cultivar Pinto (experimento 5), mas que teve tendência à redução na cultivar Fepagro (experimento 1 e 5) e na Guapo (experimento 1), também parece ter contribuído para as reduções encontradas na assimilação líquida. Outro motivo para a redução no transporte de elétrons é citado por Calatayud *et al.* (2003), que diz que o ozônio pode alterar as reações fotoquímicas da fotossíntese, diminuindo a taxa de transporte de elétrons entre os dois fotossistemas. Dessa forma, a inibição da fotossíntese pode ser resultado da disponibilidade reduzida de ATP e NADPH (Calatayud *et al.*, 2004). Além disso, a glutatona, que é reconhecida como o componente central da defesa antioxidante na maioria dos organismos aeróbicos (Foyer *et al.*, 1997), requer NADPH tanto para sua síntese quanto para a sua redução. Assim, novamente o declínio fotossintético observado pode ser resultado de menos NADPH disponível para a redução do carbono (Gupta *et al.*, 1991).

Calatayud *et al.* (2002a) citam o decréscimo no transporte de elétrons como um dos mecanismos responsáveis por reduzir o processo fotossintético em *Lactuca sativa* L.

Já a condutância estomática apresentou redução significativa apenas na cultivar Fepagro (experimento 5) e tendência de redução só na cultivar Pinto (experimento 5), porém, essas reduções não foram relacionadas com o decréscimo na assimilação. Reduções na condutância estomática causadas pela exposição ao ozônio também foram constatadas por Anderson *et al.* (1997), em plantas de *Pinus ponderosa* Laws.; Inclán *et al.* (1998), em plantas de *Pinus halepensis* Mill.; Guidi *et al.* (2000) em plantas de *Phaseolus vulgaris* cultivar Pinto; Calatayud *et al.* (2004), em plantas de *Spinacia oleraceae* L.; Hassan (2004), em plantas de *Triticum aestivum* L. cv. Giza 63 e por Moraes *et al.* (2006), em plantas de *Caesalpinia echinata* Lam. Estudos indicam que a condutância estomática pode aumentar ou diminuir em resposta ao dano por ozônio dependendo do genótipo, da concentração de ozônio, e da sensibilidade das células guardas (Robinson *et al.*, 1998). Segundo McAinsh *et al.* (2002) um declínio rápido na abertura estomática e por isso na condutância estomática é comumente observada na presença de ozônio durante um período curto de exposição, enquanto que a exposição de longa duração ao ozônio fazem com que as respostas estomáticas se tornem lentas.

Farage *et al.* (1991), McKee *et al.* (1995), Pell *et al.* (1997), Farage & Long (1999), Noormets *et al.* (2001) e Zheng *et al.* (2002) relataram que os decréscimos no conteúdo e na atividade da rubisco, mais do que o transporte de elétrons e a capacidade de regeneração da ribulose-1,5-bisfosfato(RuBP), são os primeiros responsáveis pelos efeitos deletérios do ozônio na assimilação de gás carbônico. Em adição aos efeitos na rubisco e regeneração da RuBP, outros fatores que podem potencialmente afetar a assimilação de gás carbônico são o decréscimo na abertura estomática (Zheng *et al.*, 2002) e condutância (McKee *et al.*, 1995; Fiscus *et al.*, 1997; Farage & Long, 1999; McKee *et al.*, 2000). Porém, o decréscimo na condutância estomática pode ser um reflexo da manutenção da concentração interna de CO₂ causada pela inibição do processo de carboxilação. Portanto, segundo Farage & Long (1999), Bortier *et al.* (2000) e Clark *et al.* (2000) a

baixa condutância estomática talvez seja apenas parcialmente responsável pelo decréscimo na taxa de fotossíntese através da limitação do influxo de CO₂.

Em relação ao vazamento relativo de eletrólitos, a exposição a 154 ppb h (experimento 1) de O₃ não produziu alteração no vazamento relativo de eletrólitos em nenhum cultivar. Quando a AOT₄₀ foi elevada a 304 ppb h (experimento 5) houve uma tendência de aumento na cultivar Pinto, e por fim, quando a exposição passou a 587 ppb h, houve um aumento significativo na cultivar Pinto e uma tendência de aumento na cultivar Macotaço. Nas plantas expostas ao ozônio o vazamento de eletrólitos é um dos primeiros sintomas de danos da membrana e resulta da oxidação de proteínas do grupo sulfidríla e lipídeos da membrana (Guidi *et al.*, 1999). Mudanças no funcionamento da membrana afetam uma grande gama de processos celulares, através de perdas de metabólitos e perda da compartimentação, e pode levar a um aumento na senescência dos tecidos (Weber *et al.*, 1994).

Embora um aumento no vazamento relativo de eletrólitos não tenha sido muito freqüente nas plantas expostas ao ozônio, o mesmo não se pode dizer em relação à abscisão foliar. Sob uma AOT₄₀ de 153 ppb h de O₃(experimento 3), a abscisão das folhas primárias do feijão foi antecipada nas cultivares Pinto e Fepagro e uma tendência de antecipação foi encontrada para a cultivar Guapo. Porém, sob uma AOT₄₀ de 212 ppb h (experimento 7) a cultivar Guapo foi a única que teve uma antecipação significativa na abscisão, sendo que a cultivar Fepagro apresentou uma forte tendência a antecipação. Em condições fisiológicas, a senescência é um processo altamente regulado, envolvendo a degradação da clorofila, o declínio fotossintético, a degradação de proteínas e a peroxidação de lipídeos, culminando na remobilização de nutrientes e na abscisão foliar (Ribas *et al.*, 2005).

A aceleração da senescência tem sido amplamente relatada como um dos muitos processos característicos da exposição ao O₃ (Ribas *et al.*, 2005; Ranford & Reiling, 2007). Ela pode ser antecipada por alterações no funcionamento da membrana, que afetam uma grande variedade de processos celulares, através de perdas de metabólitos e da compartimentalização ocasionada pela peroxidação de lipídios da membrana (Weber *et al.*, 1994; Calatayud *et al.*, 2003).

Não está claro, porém, se a aceleração da senescência é devida à indução do processo normal, isto é, a um tipo de morte celular programada como parte da resposta de hipersensibilidade, ou a alteração no balanço de carbono, favorecendo a respiração em detrimento da assimilação líquida. Como nesse estudo praticamente não houve alterações na respiração e no vazamento relativo de eletrólitos, e como as quedas na assimilação foram poucas, talvez a senescência em resposta ao estresse oxidativo não esteja diretamente relacionada ao efeito adverso sobre a fotossíntese (Weber *et al.*, 1994).

Segundo Pye (1988) e Lefohn, (1992), reduções da assimilação líquida, da rubisco, da condutância estomática, da eficiência do uso da água e a aceleração da senescência foliar levando a um prejuízo na produção de biomassa são respostas metabólicas típicas ao ozônio em espécies arbóreas.

Quanto às frações de biomassa da raiz, parte aérea e total da plântula, essas tiveram uma tendência à redução quando expostas ao ozônio sob a AOT₄₀ mais elevada (209 ppb h de O₃ – experimento 2) e apenas para as cultivares Fepagro e Iraí. Sob uma AOT₄₀ de 147 ppb h, porém, houve uma redução significativa na biomassa da raiz na cultivar Macotaço e um aumento significativo na cultivar Iraí. Embora o ozônio e seus produtos de reação sejam conhecidos por diminuir a fotossíntese e alterar a alocação de carboidratos, causando uma redução na acumulação de biomassa e um nítido decréscimo no crescimento radicular (Chappelka & Chevone, 1989; Rennenberg *et al.*, 1996), isso geralmente ocorre a mais longo prazo, conforme foi sugerido por Davison & Barnes (1998).

Com base no exposto acima podemos dizer que a cultivar Pinto e Fepagro mostraram-se sensíveis ao ozônio, enquanto que a cultivar Iraí mostrou-se resistente. Porém, não houve muita estabilidade nos resultados e nem sempre uma dose maior de ozônio causou mais danos às plantas. Isso pode ser em parte justificado porque a resposta das plantas ao ozônio é mais fortemente correlacionada com o fluxo cumulativo de ozônio através dos estômatos do que com a concentração de ozônio no ambiente, o que vai depender da umidade do solo, do déficit de pressão de vapor da atmosfera, da velocidade do vento e da temperatura do ar, que influenciam o grau de abertura

estomática (Fuhrer *et al.*, 1992). Além disso, sabe-se que, embora não medida, houve variação na intensidade luminosa interceptada pelas plântulas em cada experimento em função da estação do ano, sendo que esta foi menor especialmente no experimento 4, tornando assim menos nítidas as diferenças entre as plântulas controles e expostas. Também foi observado que em dias de sol pleno a resposta ao ozônio foi mais acentuada do que em dias nublados. Isso ocorre porque, além de acelerar o metabolismo, condições de alta intensidade luminosa intensificam a produção de EROs que ocorrem naturalmente no processo fotossintético. Nesse sentido, Guidi *et al.* (2000), avaliaram os efeitos combinados da alta irradiância e ozônio no processo fotossintético das folhas primárias de feijão da cultivar Pinto e concluíram que a alta intensidade luminosa pode modificar a reação das folhas ao tratamento com ozônio através da redução da taxa de transporte de elétrons dos cloroplastos e da produtividade quântica.

6. Conclusões e Sugestões de Trabalhos Futuros

Os resultados encontrados nesse estudo confirmam a cultivar Pinto como sensível ao ozônio e indicam que a cultivar Fepagro tem um ótimo potencial para ser usada futuramente como um bioindicador sensível ao ozônio, enquanto que a cultivar Iraí poderia ser considerada resistente. Se fôssemos classificar as cultivares a partir dos parâmetros levados em consideração nesse trabalho, teríamos, da mais sensível a mais tolerante, a seguinte ordem:

US Pinto 111 > Fepagro 26 > Guapo Brilhante > Macotaço > Iraí

Dentre os parâmetros avaliados, nesse estudo a assimilação líquida e a abscisão foliar foram mais eficientes para fazer a classificação das cultivares em níveis de sensibilidade do que o vazamento relativo de eletrólitos e as medidas de biomassa. Os decréscimos na fotossíntese ocorreram principalmente devido a alterações no processo de carboxilação e secundariamente devido à diminuição na capacidade de transporte de elétrons.

Recomenda-se que mais estudos sejam realizados para que essas cultivares sejam realmente utilizadas como bioindicadoras, principalmente por causa da multiplicidade de fatores que afetam o efeito do ozônio nas plantas, em especial a intensidade luminosa. Além disso, como a ativação do sistema de defesa é um processo chave na adaptação das plantas a estresses como elevados níveis de ozônio, seria interessante investigá-lo para ver se a classificação feita nesse estudo pode ser alcançada também pelos níveis e atividade do sistema antioxidante.

7. Referências Bibliográficas

AIDAR, M.P.M., MARTINEZ, C.A., COSTA, A.C., COSTA, P.M.F., DIETRICH, S.M.C., BUCKERIDGE, M.S. 2002. Effects of atmospheric CO₂ enrichment on the establishment of seedlings of jatobá. *Biota Neotropica* 2: 1-10.

ALONSO, R., ELVIRA, S., CASTILLO, F. J., GIMENO, B. S. 2001. Interactive effects of ozone and drought stress on pigments and activities of antioxidative enzymes in *Pinus halepensis*. *Plant, Cell and Environment* 4: 905-916.

ANDERSEN, C. P. 2003. Source-sink balance and carbon allocation below ground in plants exposed to ozone. *New Phytologist* 57: 213-228.

ANDERSEN, C. P. & HOGSETT, W. E. 1991. Ozone decreases spring root growth and carbohydrate content in ponderosa pine the year following exposure. *Canadian Journal of Forest Research* 21: 1288-1291.

ANDERSON, P. D., HOUPIS, J. L. J., HELMS, J. A., MOMEN, B. 1997. Seasonal variation of gas exchange and pigmentation in branches of three grafted clones of mature ponderosa pine exposed to ozone and acid rain. *Environmental Pollution* 97: 253-263.

ARNDT, U., NOBEL, W., SCHWEIZER, B. 1987. *Bioindikatoren: Möglichkeiten, Grenzen und neue Erkenntnisse*. Ulmer, Stuttgart.

APHA. 1992. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. American Public Health Association, Washington. 18ed.

BASSIN, S., KÖLLIKER, R., CRETTON, C., BERTOSSA, M., WIDMER, F., BUNGENER, 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.

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.

BRAY, E. A., BAILEY-SERRES, J., WERETILNYK, E. 2000. Responses to abiotic stresses. In: Buchanan, B. B., Gruissen, W., Jones, R. L. (Eds.), *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*. American Society for Plant Physiology, New York, pp. 1158-1203.

- BUNGENER, P., BALLS, G. R., NUSSBAUM, S., GIESSMANN, M., GRUB, A., FUHRER, J. 1999. Leaf injury characteristics of grassland species exposed to ozone in relation to soil moisture condition and vapour pressure deficit. *New Phytologist* 142: 271-282.
- BURKEY, K. O., EASON, G., FISCUS, E. L. 2003. Factors that affect leaf extracellular ascorbic acid content and redox status. *Physiology Plantarum* 117: 51-57.
- CALATAYUD, A., RAMIREZ, J. W., IGLESIAS, D. J., BARRENO, E. 2002. Effects of ozone on the photosynthetic CO₂ exchange, chlorophyll a fluorescence and antioxidant systems in lettuce leaves. *Physiology Plantarum* 116: 308-316.
- CALATAYUD, A., ALVARADO, J. W., BARRENO, E. 2002a. Similar effects of ozone on four cultivars of lettuce in open top chambers during winter. *Photosynthetica* 40 (2): 195-200.
- CALATAYUD, A., IGLESIAS, D. J., TALÓN, M., BARRENO, E. 2003. Effects of 2-month ozone exposure in spinach leaves on photosynthesis, antioxidant systems and lipid peroxidation. *Plant Physiology and Biochemistry* 41: 839-845.
- CALATAYUD, A., IGLESIAS, D. J., TALÓN, M., BARRENO, E. 2004. Response of spinach leaves (*Spinacia oleracea* L.) to ozone measured by gas exchange, chlorophyll a fluorescence, antioxidant systems and lipid peroxidation. *Photosynthetica* 42 (1): 23-29.
- CALATAYUD, A., POMARES, F., BARRENO, E. 2006. Interactions between nitrogen fertilization and ozone in watermelon cultivar Reina de Corazones in open-top chambers – Effects on chlorophyll a fluorescence, lipid peroxidation and yield. *Photosynthetica* 44 (1): 93-101.
- CASTAGNA, A., NALI, C., CIOMPI, S., LORENZINI, G., SOLDATINI, G. F. RANIERI, A. 2001. Ozone exposure affects photosynthesis of pumpkin (*Cucurbita pepo*) plants. *New Phytologist* 152 : 223-229.
- CHAPPELKA, A. H., CHEVONE, B. I. 1989. Two methods to determine plant responses to pollutant mixtures. *Environmental Pollution* 61: 31-45.
- CLARK, A. J., LANDOLT, W., BUCHER, J. B., STRASSER, R. J. 2000. Beech (*Fagus sylvatica*) response to ozone exposure assessed with a chlorophyll a fluorescence performance index. *Environmental Pollution* 109: 501-507.
- CLARK, C. S., WEBER, J. A., LEE, E. H., HOGSETT, W. E. 1995. Accentuation of gas exchange gradients in flushes of ponderosa pine exposed to ozone. *Tree Physiology* 15: 181-189.
- CRUZ, D. C. & ANTUNES, M. L. P. 2005. Ozônio: mocinho ou vilão? *Jornal Cruzeiro do Sul, UNESP - Sorocaba-SP*. Disponível em: <http://www.sorocaba.unesp.br/noticias/artigos/?a=29>

- DAVISON, A. W. & BARNES, J. D. 1992. Patterns of air pollution: critical loads and abatement strategies. In: Managing the human impact on the natural environment : patterns and Processes. Newson, M. (ed.). Bellhaven Publishing Corporation, New York, pp. 109-129.
- DAVISON, A. W. & BARNES, J. D. 1998. Effects of ozone on wild plants. *New Phytologist* 139: 135-151.
- ECKARDT, N. A. & PELL, E. J. 1995. Oxidative modification of rubisco from potato foliage in response to ozone. *Plant Physiology and Biochemistry* 33: 273-282.
- EDWARDS, N. T., FRIEND, A. L., O'NEILL, E. G., TOMLINSON, P. T. 1992. Seasonal patterns of biomass accumulation and carbon allocation in *Pinus taeda* seedlings exposed to ozone, acidic precipitation and reduced soil Mg. *Canadian Journal of Forest Research* 22: 640-646.
- ELAGÖZ, V. & MANNING, W.J. 2005. Responses of sensitive and tolerant bush beans (*Phaseolus vulgaris* L.) to ozone in open-top chambers are influenced by phenotypic differences, morphological characteristics and the chamber environment. *Environmental Pollution* 136:371-383.
- ENDRESS, A. G., POST, S. L. 1985. Altered feeding preference of Mexican bean beetle *Epilachna varivestis* for ozonated soybean foliage. *Environmental Pollution* 39: 9-16.
- FARAGE, P. K., LONG, S. P., LECHNER, E. G., BAKER, N. R. 1991. The sequence of change within the photosynthetic apparatus of wheat following short-term exposure to ozone. *Plant Physiology* 95: 529-535.
- FARAGE, P. K., LONG, S. P. 1999. The effects of ozone fumigation during leaf development on photosynthesis of wheat and pea: an in vivo analysis. *Photosynthesis Research* 59: 1-7.
- FARQUHAR, G. D. & SHARKEY, T. D. 1982. Stomatal conductance and photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology* 33: 317-345.
- FEPAM. 2003. Relatório da qualidade do ar 2001-2002. Porto Alegre.
- FISCUS, E. L., REID, C. D., MILLER, J. E., HEAGLE, A. S. 1997. Elevated CO₂ reduces O₃ flux and O₃-induced yield losses in soybeans: possible implications for elevated CO₂ studies. *Journal of Experimental Botany* 48: 307-313.
- FOYER, C. H., LOPEZ-DELGADO, H., DAT, J. F., SCOTT, I. M. 1997. Hydrogen peroxide and glutathione associated mechanisms of acclimatory stress tolerance and signalling. *Physiology Plantarum* 100: 241-254.
- FRIEND, A. L. & TOMLINSON, P. T. 1992. Mild ozone exposure alters ¹⁴C dynamics in foliage of *Pinus taeda* L. *Tree Physiology* 11: 215-227.
- FRIEND, A. L., TOMLINSON, P. T., DICKSON, R. E., O'NEILL, E. G., EDWARDS, N. T., TAYLOR Jr., G. E. 1992. Biochemical composition of loblolly pine reflects pollutant exposure. *Tree Physiology* 11: 35-37.

- FUHRER, J., GRANDJEAN GRIMM, A., TSCHANNEN, W., SHARIAT-MADARI, H. 1992. The response of spring wheat (*Triticum aestivum* L.) to ozone at higher elevations. II. Changes in yield, yield components and grain quality in response to ozone flux. *New Phytologist* 121: 211-219.
- FUHRER, J., SKÄRBY, L., ASHMORE, M. R. 1997. Critical levels for ozone effects on vegetation in Europe. *Environmental Pollution* 97: 91-106.
- FUHRER, J. 2003. Agroecosystem responses to combinations of elevated CO₂, ozone and global climate exchange. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 97: 1-20.
- FURTADO, M. 2005. Controle da poluição do ar. *Revista Química e Derivados*, 443.
- GRÜNHAGE, L., KRAUSE, G. H. M., KÖLLNER, B., BENDER, J., WEIGEL, H.-J., JÄGER, H. J. & GUDERIAN, R. 2001. A new flux-orientated concept to derive critical levels for ozone to protect vegetation. *Environmental Pollution* 111:355-362.
- GUIDI, L., NALI, C., CIOMPI, S., LORENZINI, G., SOLDATINI, G. F. 1997. The use of chlorophyll fluorescence and leaf gas exchange as methods of studying the different responses to ozone of two bean cultivars. *Journal of Experimental Botany* 48: 173-179.
- GUIDI, L., NALI, C., LORENZINI, G., SOLDATINI, G. F. 1998. Photosynthetic response to ozone of two poplar clones showing different sensitivity. *Chemosphere* 36: 657-662.
- GUIDI, L., BONGI, G., CIOMPI, S., SOLDATINI, G. F. 1999. In *Vicia faba* leaves photoinhibition from ozone fumigation in light precedes a decrease in quantum yield of functional PS2 centres. *Journal of Plant Physiology* 154: 167-172.
- GUIDI, L., TONINI, M., SOLDATINI, G. F. 2000. Effects of high light and ozone fumigation on photosynthesis in *Phaseolus vulgaris*. *Plant Physiology and Biochemistry* 38: 717-725.
- GUIDI, L., NALI, C., LORENZINI, G., SOLDATINI, G. F. 2001. Effect of chronic ozone fumigation on the photosynthetic process of poplar clones showing different sensitivity. *Environmental Pollution* 113: 245-254.
- GÜNTHARDT-GOERG, M. S., MATYSSEK, R., SCHEIDEGGER, C., KELLER, T. 1993. Differentiation and structural declines in the leaves and bark of birch (*Betula pendula*) under low ozone concentrations. *Trees Structure and Function* 7: 104-114.
- GUPTA, A. S., ALSCHER, R. G., McCUNE, D. 1991. Response of photosynthesis and cellular antioxidants to ozone in *Populus* leaves. *Plant Physiology* 96: 650-655.

- HALLIWELL, B. & GUTTERIDGE, J. M. C. 2007. Free radicals in biology and medicine (4^aed.). Oxford University Press Inc., New York, 851 p.
- HASSAN, I. A. 2004. Interactive effects of salinity and ozone pollution on photosynthesis, stomatal conductance, growth and assimilate partitioning of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Photosynthetica* 42 (1): 111-116.
- HEAGLE, A.S., BODY, D.E. & HECK, W.W. 1973. An open-top field chamber to assess the impact of air pollution on plants. *Journal of Environmental Quality* 2: 365-368.
- HEATH, R. L. 1980. Initial events in injury to plants by air pollutants. *Annual Review of Plant Physiology* 31: 395-431.
- HEATH, R. L. 1994. Possible mechanisms for the inhibition of photosynthesis by ozone. *Photosynthesis Research* 39: 439-451.
- HEGGESTAD, 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.
- HIBBEN, C. R. & TAYLOR, M. P. 1975. Ozone and sulphur dioxide effects on the lilac powdery mildew fungus. *Environmental Pollution* 9: 107-114.
- HIPPELI, S. & ELSTNER, E. 1996. Mechanisms of oxygen activation during plant stress: biochemical effects of air pollutants. *Journal of Plant Physiology* 148: 249-257. *Photosynthesis Research* 39: 439-451.
- INCLÁN, R., ALONSO, R., PUJADAS, M., TERÉS, J., GIMENO, B. S. 1998. Ozone and drought stress: interactive effects on gas exchange in Aleppo pine (*Pinus halepensis* Mill.). *Chemosphere* 36: 685-690.
- INCLÁN, R., RIBAS, A., PENUELAS, J., GIMENO, B. S. 1999. The relative sensitivity of different Mediterranean plant species to ozone exposure. *Water, Air and Soil Pollution* 116: 273-277.
- KLEIER, C., FARNSWORTH, B., WINNER, W. 2001. Photosynthesis and biomass allocation of radish cv. "Cherry Belle" in response to root temperature and ozone. *Environmental Pollution* 111: 127-133.
- KLUMPP, A., ANSEL, W., KLUMPP, G., FOMIN, A. 2001. Um novo conceito de monitoramento e comunicação ambiental: a rede européia para avaliação da qualidade do ar usando plantas bioindicadoras (EuroBionet). *Revista Brasileira de Botânica* 24 (4): 511-518.
- KRAUSE, C. R., WEIDENSAUL, T. C. 1978. Effects of ozone on the sporulation, germination and pathogenicity of *Botrytis cinerea*. *Phytopathology* 68: 195-198.
- KRUPA, S. V., GRÜNHAGE, L., JÄGER, H. J., NOSAL, M., MANNING, W. J., LEGGE, A. H., HANEWALD, K. 1995. Ambient ozone and adverse crop response: a unified view of cause and effect. *Environmental Pollution* 87: 119-126.

- LEFOHN A. S. 1992. Surface level ozone exposures and their effects on vegetation. Lewis Publishers, Chelsea, pp. 271-286.
- LEVIN, A. G. & PIGNATA, M. L. 1995. *Ramalina ecklonii* as a bioindicator of atmospheric pollution in Argentina. Canadian Journal of Botany 73: 1196-1202.
- MAANDRE, M. & TUULMETS, L. 1997. Pigment changes in Norway spruce induced by dust pollution. Water, Air and Soil Pollution 94: 247-258.
- MANDL, R.H., WEINSTEIN, L.H., MCCUNE, D.C., KEVENY, M. 1973. A cylindrical, open-top chamber for the exposure of plants to air pollutants in the field. Journal of Environmental Quality 2: 371-376.
- MARTINS, C. R., SILVA, F. F., DISCONZI, M. S., PINHEIRO, C. J. 2006. Monitoramento da poluição atmosférica (ozônio troposférico) através da planta bioindicadora do tabaco (*Nicotiana tabacum* L.), no Município de Uruguaiana, RS, Brasil. Disponível em: <http://www.campus2.br/downloads/Resumo%20dos%20Projetos/18-MONITORAMENTO%20DA%20POLUICAO%20ATMOSFERICA.pdf#search=%22oz%C3%B4nio%20sa%C3%BAde%22>
- MARTINS, R. A. & RODRIGUES, G. S. 2001. In: Mudanças climáticas globais e a agricultura brasileira (de Lima, M. A., Cabral, O. M. R., Miguez, J. D. G., eds.). EMBRAPA Meio Ambiente, Jaguariúna - SP, pp.143-165.
- MATYSSEK, R., GUNTARDT-GOERG, M. S., KELLER, T., SCHEIDEGGER, C. 1991. Impairment of gas exchange and structure in birch leaves (*Betula pendula*) caused by low ozone concentrations. Trees Structure and function 5: 5-13.
- MATYSSEK, R., KELLER, T., CACAO, T. 1993. Branch growth and leaf gas exchange of *Populus tremolo* exposed to low ozone concentrations throughout two growing seasons. Environmental Pollution 79: 1-7.
- McAINSH, M. R., EVANS, N. H., MONTGOMERY, L. T., NORTH, K. A. 2002. Calcium signalling in stomatal responses to pollutants. New Phytologist 153 (3): 441- 447.
- McKEE I. F., FARAGE, P. K., LONG, S. P. 1995. The interactive effects of elevated CO₂ and O₃ concentration on photosynthesis in spring wheat. Photosynthesis Research 45: 111-119.
- McKEE, I. F., MULHOLLAND, B. J., CRAIGON, J., BLACK, C. R., LONG, S. P. 2000. Elevated concentration of atmospheric CO₂ protect against and compensate for O₃ damage to photosynthetic tissue of field-grown wheat. New Phytologist 146: 427-435.
- MILLER, P. R., LONGBOTHAM, G. J., LONGBOTHAM, C. R. 1983. Sensitivity of selected western conifers to ozone. Plant Disease 67: 1113-1115.

MOONEY, H. A. & WINNER, W. E. 1988. Carbon gain, allocation and growth as affected by atmospheric pollutants. In *Air pollution and plant metabolism* (S. Schulte-Hostede, N. M. Darral, L. W. Blank & A. R. Wellburn, eds.). Elsevier Applied Science, London, pp. 272-287.

MORAES, R. M., DELITTI, W. B. C., MORAES, J. A. P.V. 2000. Respostas de indivíduos jovens de *Tibouchina pulchra* Cogn. à poluição aérea de Cubatão, SP: fotossíntese líquida, crescimento e química foliar. *Revista Brasileira de Botânica* 23 (4): 441-447.

MORAES, R. M., BULBOVAS, P., FURLAN, C. M., DOMINGOS, M., MEIRELLES, S. T., DELITTI, W. B. C., SANZ, M. J. 2006. Physiological responses of saplings of *Caesalpinia echinata* Lam., a Brazilian tree species, under ozone fumigation. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 63: 306-312.

MUDD, J. B. 1982. Effects of oxidants on metabolic function. In: Unsworth, M. H., Ormrod, D. P. (ed.): *Effects of Gaseous Air Pollution in Agriculture and Horticulture*. Butterworth Scientific, London – Boston – Sydney – Wellington – Durban – Toronto, pp. 189-203.

NAJA, M., AKIMOTO, H., STAEHELIN, J. 2003. Ozone in background and photochemically aged air over central Europe: analysis of long-term ozonesonde data from Hohenpeissenberg and Payerne. *Journal of Geophysical Research – Atmospheres* 108.

NALI, C., GUIDI, L., FILIPPI, F., SOLDATINI, G. F., LORENZINI, G. 1998. Photosynthesis of two poplar clones contrasting in O₃ sensitivity. *Trees* 12: 196-200.

NEBEL, B. & FUHRER, J. 1994. Ozone sensitivity of species in semi-natural plant communities. In: Fuhrer, J., achermann, B. (Eds.), *Critical Levels for Ozone: UN-ECE Workshop report No. 16*. Lieberfeld-Bern, Switzerland: UN-ECE, pp. 264-268.

NOORMETS, A., SOBER, A., PELL, E. J., DICKSON, R. E., PODILA, G. K., SOBER, J., ISEBRANDS, J. G., KARNOSKY, D. F. 2001. Stomatal and non-stomatal limitation to photosynthesis in two trembling aspen (*Populus tremuloides* Michx.) clones exposed to elevated CO₂ and/or O₃. *Plant, Cell and Environment* 24: 327-336.

PÄÄKKÖNEN, E., HOLOPAINEN, T., KÄRENLAMPI, L. 1995. Ageing-related anatomical and ultrastructural changes in leaves of birch (*Betula pendula* Roth.) clones to ozone in open-air and chamber fumigations. *New Phytologist* 125: 615-623.

PÄÄKKÖNEN, E., HOLOPAINEN, T., KÄRENLAMPI, L. 1997a. Variation in ozone sensitivity of *Betula pendula* and *Betula pubescens* clones from southern and central Finland. *Environmental Pollution* 95: 37-44.

PÄÄKKÖNEN, E., HOLOPAINEN, T., KÄRENLAMPI, L. 1997b. Differences in growth, leaf senescence, injury and stomatal density in birch (*Betula pendula* Roth) in relation to ambient levels of ozone in Finland. *Environmental Pollution* 96: 117-127.

- PÄÄKKÖNEN, F., VAHALA, J., POHJOLA, M., HOLOPAINEN, T., KÄRENLAMPI, L. 1998. Physiological, stomatal and ultrastructural ozone responses in birch (*Betula pendula* Roth) are modified by water stress. *Plant, Cell and Environment* 21: 671-684.
- PARSONS, R. & OGSTON, S. A. 1998. Photosyn Assistant: software for analysis of photosynthesis. Dundee Scientific.
- PEARSON, S., DAVISON, A. W., REILING, K., ASHENDEN, T., OLLERENSHAW, J. H. 1996. The effects of different ozone exposure on three contrasting populations of *Plantago major* L. *New Phytologist* 132: 493-502.
- PELL, E. J., ECKART, N. A., ENYEDI, A. J. 1992. Timing of ozone stress and resulting status of ribulose bisphosphate carboxylase/oxygenase and associated net photosynthesis. *New Phytologist* 120: 397-405.
- PELL, E. J., ECKART, N. A., GLICK, R. E. 1994. Biochemical and molecular basis for impairment of photosynthesis potential. *Photosynthesis Research* 39: 453-462.
- PELL, E. J., SCHLAGNHAUFER, C. D., ARTECA, R. N. 1997. Ozone-induced oxidative stress: mechanisms of action and reaction. *Physiology Plantarum* 100: 264-273.
- PETROBRAS. 1998. Porto Alegre air quality study. Canoas, 1998. 218f v 1: Ambient air measurements. Final Report. Projeto: O impacto dos combustíveis automotivos na qualidade do ar da região metropolitana de Porto Alegre.
- PLAZEK, A., RAPACZ, M., SKOCZOWSKI, A. 2000. Effects of ozone fumigation on photosynthesis and membrane permeability in leaves of spring barley, meadow fescue and winter rape. *Photosynthetica* 38 (3): 409-413.
- PRADO, C. H. B. A. & MORAES, J. A. P. V. 1997. Photosynthetic capacity and specific leaf mass in twenty woody species of Cerrado vegetation under field conditions. *Photosynthetica* 33:103-12.
- PYE, J. M. 1988. Impact of ozone on the growth and yield of trees: a review. *Journal of Environmental Quality* 17: 347-360.
- RANFORD, J. & REILING, K. 2007. Ozone induced leaf loss and decreased leaf production of European Holly (*Ilex aquifolium* L.) over multiple seasons. *Environmental Pollution* 145:355-364.
- REICH, P. B. & LASSOIE, J. P. 1984. *Plant, Cell and Environment* 7: 661: 668.
- REICHENAUER, T. G., GOODMAN, B. A., KOSTECKI, P., SOJA, G. 1998. Ozone sensitivity in *Triticum durum* and *T. aestivum* with respect to leaf injury, photosynthetic activity and free radical content. *Physiology Plantarum* 104: 681-686.
- RENNENBERG, H., HERSCHBACH, C., POLLE, A. 1996. Consequences of air pollution on shoot-root interactions. *Journal of Plant Physiology* 148: 296-301.

- RIBAS, A., PEÑUELAS, J., ELVIRA, S., GIMENO, B. S. 2005. Ozone exposure induces the activation of leaf senescence-related process and morphological and growth changes in seedlings of Mediterranean tree species. *Environmental Pollution* 134: 291-300.
- ROBINSON, M. F., HEAT, J., MANSFIELD, T. A. 1998. Disturbances in stomatal behaviour caused by air pollutants. *Journal of Experimental Botany* 49: 461-469.
- ROGERS, A. & HUMPHRIES, S. W. 2000. A mechanistic evaluation of photosynthetic acclimation at elevated CO₂. *Global Change Biology* 6: 1005-1011.
- RUNECKLES, V. C. & KRUPA, S. V. 1994. The impact of UV-b radiation and ozone on terrestrial vegetation. *Environmental Pollution* 83: 191-213.
- SAGE, R. F. 1990. A model describing the regulation of ribulose-1-5-bisphosphate carboxylase, electron-transport and triose phosphate use in response to light-intensity and CO₂, in C3 plants. *Plant Physiology* 94: 1728-1734.
- SANDERMANN, H., WELLBURN, A. R., HENTH, R. L. 1997. Forest decline and ozone: Synopsis. In: *Forest Decline and ozone. A comparison of Controlled Chamber and Field Experiments* (Sandermann, H., Wellburn, A. R., Henth, R. L. eds.), pp. 369-377. Springer.
- SANDERS, G. E., DIXON, J., COB, A. H. 1993. Will increasing ozone pollution associated with global climate change alter crop tolerance to herbicides? In: ATKINSON, D. (ed.), *Global climate change. Its implications for crop protection*. Berks, UK: BCPC. P. 83-94.
- SASEK, T. W., RICHARDSON, C. J., FENDIK, E. A., BEVINGTON, S. R., KRESS, L. 1991. Carryover effects of acid rain and ozone on the physiology of multiple flushes of loblolly pine seedlings. *Forest Science* 37: 1078-1098.
- SCEBBA, F., GIUNTINI, D., CASTAGNA, A., SOLDATINI, G., RANIERI, A. 2006. Analysing the impact of ozone on biochemical and physiological variables in plant species belonging to natural ecosystems. *Environmental and Experimental Botany* 57: 89-97.
- SCHNUG, E. 1998. Response of plant metabolism to air pollution and global change impact on agriculture. *Proceedings of The Fourth International Symposium on Responses of Plant Metabolism to Air Pollution and Global Change*, April 15, 1997. The Hague, The Netherlands: Egmond aan Zee, SPB Academic Publishing (inpress).
- TELLES, L. 2003. Vegetação pode contribuir com parte do ozônio presente na região metropolitana de São Paulo. Agência USP Notícias, Boletim n° 1165, São Paulo. Disponível em: <http://www.usp.br/agen/bols/2003/rede1165.htm>
- TINGEY, D. T. & TAYLOR Jr., G. E. 1982. Effects of Gaseous Air Pollution in Agriculture and Horticulture (Unsworth, M. H., Ormrod, D. P., eds.). Butterworths, London, pp. 113-138.

- TINGEY, D. T. & HOGSETT, W. E. 1985. Water stress reduces ozone injury via stomatal mechanism. *Plant Physiology* 77: 944-947.
- TINGEY, D. T. & ANDERSEN, C. P. 1991. *Ecological Genetics and Air Pollution* (Taylor Jr., G. E., Pitelka, L. F., Clegg, M. T., eds.). Springer-Verlag, New York, pp. 209-235.
- TIBBITTS, T.W. & LANGHANS, R.W. 1993. Controlled-environment studies. In: *Photosynthesis and production in a changing environment* (D.O. Hall, J.M.O. Scurluck, H.R. Bolh ar-Nordenkampf, R.C. Leegood & S.P. Long, eds.). Chapman & Hall, London, p.65-78.
- TRESHOW, M. & ANDERSON, F. K. 1991. *Plant stress from air pollution*. John Wiley and sons, Chichester.
- UNSWORTH, M. 1987. Adding ethylene to injury. *Nature* 327: 364-365.
- U. S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. 1986. *Air Quality Criteria for Ozone and Other Photochemical Oxidants*, EPA-600/8-84-020, Environmental Criteria and Assessment Office, Research Triangle Park, NC.
- VON CAEMMERER, S. & FARQUHAR, G. D. 1981. Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. *Planta* 153: 376-429.
- WEBER, J. A., CLARK, C. S., HOGSETT, W. E. 1993. Analysis of the relationships among O₃ uptake, conductance and photosynthesis in needles of *Pinus ponderosa*. *Tree Physiology* 13: 157-172.
- WEBER, J. A., TINGEY, D. T., ANDERSEN, C. P. 1994. Plant response to air pollution. In: *Plant-environment interactions* (R. E. Wilkinson, ed.). Marcel Dekker, New York, pp. 355-411.
- WEDLER, M., WEIKERT, R. M., LIPPERT, M. 1995. Photosynthetic performance, chloroplast pigments and mineral content of Norway spruce (*Picea abies*(L.) Karst.) exposed to SO₂ and O₃ in a open-air fumigation experiment. *Plant, cell & Environment* 18: 263-276.
- WULLSCHLEGER, S. D. 1993. Biochemical limitations to carbon assimilation in C3 plants – a retrospective analysis of the A/Ci curves from 109 species. *Journal of Experimental Botany* 44: 907-920.
- YAMAJI, K., JULKUNEN-TIITTO, R., ROUSI, M., FREIWALD, V., OKSANEN, E. 2003. Ozone exposure over two growing seasons alters root-to-shoot ratio and chemical composition of birch (*Betula pendula* Roth). *Global Change Biology* 9: 1363-1371.
- ZHENG, Y., SHIMIZU, H., BARNES, J. D. 2002. Limitations to CO₂ assimilation in ozone-exposed leaves of *Plantago major*. *New Phytologist* 155: 67-78.

8. Anexos

8.1. Análise Estatística Experimento 1

8.1.1. Assimilação Líquida (A)

	Tratamentos	Número Amostrai	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	P
Fepagro	Controle	5	8,740	1,537	0,687	0,038
	Exposto	5	6,120	1,801	0,805	
Guapo	Controle	5	9,400	1,771	0,792	0,005
	Exposto	5	5,920	1,001	0,448	
Iraí	Controle	5	7,900	1,992	0,891	0,518
	Exposto	5	6,660	3,587	1,604	
Macotaço	Controle	5	8,520	0,750	0,335	0,046
	Exposto	5	7,060	1,161	0,519	
Pinto	Controle	5	8,920	1,052	0,471	0,222
	Exposto	5	6,160	4,540	2,030	

8.1.2. Assimilação Máxima (Amax)

	Tratamentos	Número Amostrai	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	P
Fepagro	Controle	5	12,856	1,547	0,692	0,086
	Exposto	5	10,252	2,537	1,135	
Guapo	Controle	5	15,598	3,891	1,740	0,153
	Exposto	5	12,271	2,657	1,188	
Iraí	Controle	5	12,191	2,792	1,249	0,905
	Exposto	4	11,733	3,396	1,698	
Macotaço	Controle	5	12,222	1,300	0,581	0,262
	Exposto	5	10,776	2,344	1,048	
Pinto	Controle	5	13,370	1,557	0,696	0,617
	Exposto	5	11,701	6,992	3,127	

8.1.3. Eficiência de Carboxilação (ce)

	Tratamentos	Número Amostrai	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	P
Fepagro	Controle	5	0,148	0,064	0,029	0,069
	Exposto	5	0,080	0,035	0,015	
Guapo	Controle	5	0,340	0,400	0,139	0,016
	Exposto	5	0,090	0,027	0,012	
Iraí	Controle	5	0,111	0,029	0,013	0,809
	Exposto	4	0,119	0,070	0,035	
Macotaço	Controle	5	0,222	0,078	0,035	0,053
	Exposto	5	0,135	0,035	0,016	
Pinto	Controle	5	0,169	0,078	0,035	0,095
	Exposto	5	0,100	0,094	0,042	

8.1.4. Velocidade Máxima de Carboxilação da Rubisco (V_{cmax})

	Tratamentos	Número Amostral	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	P
Fepagro	Controle	5	40,120	7,011	3,136	0,011
	Exposto	5	25,260	7,385	3,303	
Guapo	Controle	5	67,280	35,688	15,960	0,045
	Exposto	5	28,580	7,374	3,298	
Iraí	Controle	5	33,700	7,514	3,361	0,567
	Exposto	5	29,200	15,071	6,740	
Macotaço	Controle	5	45,500	12,541	5,609	0,120
	Exposto	5	33,980	7,845	3,508	
Pinto	Controle	5	45,640	16,003	7,157	0,095
	Exposto	5	29,88	23,824	10,654	

8.1.5. Capacidade de Transporte de Elétrons (J_{max})

	Tratamentos	Número Amostral	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	P
Fepagro	Controle	5	70,760	13,737	6,143	0,068
	Exposto	5	52,060	14,325	6,406	
Guapo	Controle	5	88,100	25,106	11,228	0,079
	Exposto	5	61,960	14,622	6,539	
Iraí	Controle	5	61,420	10,795	4,828	0,570
	Exposto	5	55,020	21,604	9,662	
Macotaço	Controle	5	69,600	8,205	3,669	0,344
	Exposto	5	63,020	12,103	5,413	
Pinto	Controle	5	72,260	12,703	5,681	0,151
	Exposto	5	68,160	53,731	24,029	

8.1.6. Respiração

	Tratamentos	Número Amostral	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	P
Fepagro	Controle	5	1,147	0,173	0,077	0,571
	Exposto	5	1,252	0,358	0,160	
Guapo	Controle	5	1,348	0,309	0,138	0,658
	Exposto	5	1,468	0,495	0,221	
Iraí	Controle	5	0,962	0,394	0,176	0,516
	Exposto	5	1,173	0,570	0,255	
Macotaço	Controle	5	1,123	0,445	0,199	0,151
	Exposto	5	1,394	0,050	0,022	
Pinto	Controle	5	1,106	0,532	0,238	0,428
	Exposto	5	1,324	0,239	0,107	

8.1.7. Limitação Estomática (L_s)

	Tratamentos	Número Amostral	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	P
Fepagro	Controle	5	10,546	1,972	0,882	0,041
	Exposto	5	7,138	2,430	1,087	
Guapo	Controle	5	13,847	4,433	1,983	0,057
	Exposto	5	8,845	2,369	1,060	
Iraí	Controle	5	9,459	2,317	1,036	0,841
	Exposto	5	9,912	3,616	1,617	
Macotaço	Controle	5	10,708	1,548	0,692	0,127
	Exposto	5	8,789	1,988	0,889	
Pinto	Controle	5	11,124	2,075	0,928	0,438
	Exposto	5	8,503	6,866	3,070	

8.1.8. Condutância Estomática (g_s)

	Tratamentos	Número Amostral	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	P
Fepagro	Controle	5	104,600	24,069	10,764	0,794
	Exposto	5	100,000	29,589	13,233	
Guapo	Controle	5	88,400	12,837	5,741	0,490
	Exposto	5	81,000	18,908	8,456	
Iraí	Controle	5	113,400	36,343	16,253	0,607
	Exposto	5	99,000	47,974	21,455	
Macotaço	Controle	5	91,400	25,016	11,187	0,889
	Exposto	5	89,600	12,661	5,662	
Pinto	Controle	5	113,600	24,131	10,792	0,669
	Exposto	5	103,800	43,008	19,234	

8.1.9. Transpiração (E)

	Tratamentos	Número Amostral	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	P
Fepagro	Controle	5	1,330	0,288	0,129	0,901
	Exposto	5	1,362	0,478	0,214	
Guapo	Controle	5	1,132	0,180	0,081	0,594
	Exposto	5	1,066	0,195	0,087	
Iraí	Controle	5	1,436	0,424	0,190	0,511
	Exposto	5	1,234	0,501	0,224	
Macotaço	Controle	5	1,208	0,264	0,118	0,828
	Exposto	5	1,176	0,179	0,080	
Pinto	Controle	5	1,430	0,256	0,115	0,510
	Exposto	5	1,284	0,398	0,178	

8.1.10. Razão Ci/Ca

	Tratamentos	Número Amostral	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	P
Fepagro	Controle	5	0,517	0,049	0,022	0,005
	Exposto	5	0,642	0,056	0,025	
Guapo	Controle	5	0,408	0,121	0,054	0,020
	Exposto	5	0,584	0,063	0,028	
Iraí	Controle	5	0,585	0,028	0,012	0,429
	Exposto	5	0,615	0,073	0,033	
Macotaço	Controle	5	0,461	0,100	0,045	0,156
	Exposto	5	0,553	0,084	0,038	
Pinto	Controle	5	0,531	0,097	0,043	0,085
	Exposto	5	0,668	0,122	0,055	

8.1.11. Eficiência no Uso da Água (WUE)

	Tratamentos	Número Amostral	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	P
Fepagro	Controle	5	6,661	0,928	0,415	0,013
	Exposto	5	4,623	1,084	0,485	
Guapo	Controle	5	8,473	2,138	0,956	0,032
	Exposto	5	5,617	0,855	0,382	
Iraí	Controle	5	5,577	0,510	0,228	0,690
	Exposto	5	5,260	1,323	0,592	
Macotaço	Controle	5	7,260	1,316	0,589	0,222
	Exposto	5	6,121	1,264	0,565	
Pinto	Controle	5	6,372	1,230	0,550	0,116
	Exposto	5	4,528	1,993	0,891	

8.1.12. Vazamento Relativo de Eletrólitos

	Tratamentos	Número Amostral	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	P
Fepagro	Controle	5	18,780	3,556	1,590	0,121
	Exposto	5	32,147	16,844	7,533	
Guapo	Controle	5	14,172	4,114	1,840	0,377
	Exposto	5	16,477	3,670	1,641	
Iraí	Controle	5	21,996	10,096	4,515	0,342
	Exposto	3	15,653	2,987	1,725	
Macotaço	Controle	5	19,670	10,710	4,792	0,841
	Exposto	5	18,650	5,370	2,401	
Pinto	Controle	5	22,945	6,967	3,116	0,563
	Exposto	2	19,154	8,625	6,099	

8.2. Análise Estatística Experimento 2

8.2.1. Biomassa da Parte Aérea

	Tratamentos	Número Amostral	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	P
Fepagro	Controle	4	0,667	0,281	0,141	0,085
	Exposto	5	0,395	0,109	0,049	
Guapo	Controle	5	0,513	0,187	0,084	0,142
	Exposto	5	0,365	0,078	0,035	
Iraí	Controle	5	0,715	0,252	0,113	0,056
	Exposto	5	0,407	0,101	0,045	
Macotaço	Controle	5	0,521	0,215	0,096	0,310
	Exposto	5	0,357	0,076	0,034	
Pinto	Controle	4	0,602	0,359	0,179	0,140
	Exposto	5	0,326	0,105	0,047	

8.2.2. Biomassa da Raiz

	Tratamentos	Número Amostral	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	P
Fepagro	Controle	4	0,181	0,086	0,043	0,084
	Exposto	5	0,096	0,037	0,016	
Guapo	Controle	5	0,116	0,046	0,021	0,690
	Exposto	5	0,098	0,018	0,008	
Iraí	Controle	5	0,160	0,082	0,037	0,079
	Exposto	5	0,084	0,019	0,009	
Macotaço	Controle	5	0,110	0,060	0,027	0,755
	Exposto	5	0,100	0,023	0,010	
Pinto	Controle	4	0,129	0,088	0,044	0,354
	Exposto	5	0,086	0,038	0,017	

8.2.3. Biomassa Total da Plântula

	Tratamentos	Número Amostrai	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	P
Fepagro	Controle	4	0,848	0,367	0,184	0,084
	Exposto	5	0,491	0,145	0,065	
Guapo	Controle	5	0,629	0,232	0,104	0,175
	Exposto	5	0,463	0,092	0,041	
Iraí	Controle	5	0,875	0,331	0,148	0,056
	Exposto	5	0,491	0,120	0,054	
Macotaço	Controle	5	0,631	0,274	0,122	0,421
	Exposto	5	0,457	0,090	0,040	
Pinto	Controle	4	0,731	0,445	0,223	0,169
	Exposto	5	0,412	0,142	0,063	

8.3. Análise Estatística Experimento 3

8.3.1. Abscisão Foliar

	Tratamentos	Número Amostrai	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	P
Fepagro	Controle	5	32,900	3,229	1,444	0,004
	Exposto	5	25,600	2,584	1,155	
Guapo	Controle	5	32,800	3,475	1,554	0,090
	Exposto	5	27,600	4,917	2,199	
Iraí	Controle	5	30,800	2,636	1,179	0,627
	Exposto	5	29,900	2,987	1,336	
Macotaço	Controle	5	31,700	3,511	1,570	0,240
	Exposto	5	28,900	3,471	1,552	
Pinto	Controle	5	34,700	3,012	1,347	<0,001
	Exposto	5	23,400	2,584	1,155	

8.4. Análise Estatística Experimento 4

8.4.1. Assimilação Líquida (A)

	Tratamentos	Número Amostrai	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	P
Fepagro	Controle	5	4,680	1,477	0,661	0,076
	Exposto	4	2,600	1,510	0,755	
Guapo	Controle	5	4,740	1,924	0,861	0,090
	Exposto	5	3,020	0,522	0,233	
Iraí	Controle	5	5,900	1,821	0,814	0,135
	Exposto	4	4,150	1,075	0,538	
Macotaço	Controle	5	4,200	1,625	0,727	0,278
	Exposto	4	2,975	1,448	0,724	
Pinto	Controle	5	5,6	1,645	0,736	ND
	Exposto	1	1,4	ND	ND	

8.4.2. Assimilação Máxima (A_{max})

	Tratamentos	Número Amostral	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	P
Fepagro	Controle	5	6,526	2,311	1,033	0,632
	Exposto	4	5,617	3,155	1,578	
Guapo	Controle	5	5,725	1,956	0,875	0,220
	Exposto	5	4,466	0,808	0,361	
Iraí	Controle	5	6,925	1,735	0,776	0,691
	Exposto	4	7,587	3,032	1,516	
Macotaço	Controle	5	5,263	1,685	0,754	0,119
	Exposto	4	7,383	1,900	0,950	
Pinto	Controle	5	8,310	3,268	1,462	ND
	Exposto	1	3,460	ND	ND	

8.4.3. Eficiência de Carboxilação (ce)

	Tratamentos	Número Amostral	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	P
Fepagro	Controle	5	0,125	0,068	0,030	0,032
	Exposto	4	0,036	0,020	0,010	
Guapo	Controle	5	0,098	0,077	0,035	0,142
	Exposto	5	0,041	0,015	0,007	
Iraí	Controle	5	0,115	0,072	0,032	0,126
	Exposto	4	0,049	0,022	0,011	
Macotaço	Controle	5	0,075	0,040	0,018	0,204
	Exposto	4	0,041	0,031	0,015	
Pinto	Controle	5	0,082	0,021	0,009	ND
	Exposto	1	0,016	ND	ND	

8.4.4. Velocidade Máxima de Carboxilação da Rubisco (V_{cmax})

	Tratamentos	Número Amostral	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	P
Fepagro	Controle	5	16,516	9,142	4,088	0,252
	Exposto	4	10,155	4,846	2,423	
Guapo	Controle	5	13,632	6,370	2,849	0,161
	Exposto	5	8,764	3,014	1,348	
Iraí	Controle	5	14,44	6,200	2,773	0,413
	Exposto	4	13,365	6,607	3,304	
Macotaço	Controle	5	11,694	5,436	2,431	0,556
	Exposto	4	9,585	4,589	2,295	
Pinto	Controle	5	19,212	8,353	3,736	ND
	Exposto	1	5,37	ND	ND	

8.4.5. Capacidade de Transporte de Elétrons (J_{max})

	Tratamentos	Número Amostral	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	P
Fepagro	Controle	5	35,140	12,572	5,622	0,380
	Exposto	4	27,325	12,238	6,119	
Guapo	Controle	5	31,380	10,951	4,897	0,384
	Exposto	5	26,180	6,274	2,806	
Iraí	Controle	5	35,540	9,667	4,323	0,977
	Exposto	4	35,750	11,807	5,903	
Macotaço	Controle	5	28,900	9,218	4,122	0,888
	Exposto	4	29,950	12,409	6,205	
Pinto	Controle	5	44,080	15,748	7,043	ND
	Exposto	1	17	ND	ND	

8.4.6. *Respiração*

	Tratamentos	Número Amostral	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	P
Fepagro	Controle	5	0,983	0,412	0,184	0,431
	Exposto	4	1,374	0,956	0,478	
Guapo	Controle	5	1,054	0,294	0,132	0,674
	Exposto	5	1,215	0,769	0,344	
Iraí	Controle	5	0,820	0,288	0,129	0,030
	Exposto	4	1,232	0,097	0,049	
Macotaço	Controle	5	0,992	0,213	0,095	0,286
	Exposto	4	1,444	0,574	0,287	
Pinto	Controle	5	1,211	0,528	0,236	ND
	Exposto	1	1,080	ND	ND	

8.4.7. *Limitação Estomática (Ls)*

	Tratamentos	Número Amostral	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	P
Fepagro	Controle	5	5,302	2,311	1,033	0,153
	Exposto	4	3,100	1,637	0,819	
Guapo	Controle	5	4,407	2,181	0,976	0,164
	Exposto	5	2,832	0,731	0,327	
Iraí	Controle	5	5,350	1,482	0,663	0,502
	Exposto	4	4,531	2,000	1,000	
Macotaço	Controle	5	3,935	1,816	0,812	0,725
	Exposto	4	3,451	2,145	1,072	
Pinto	Controle	5	6,157	2,406	1,076	ND
	Exposto	1	1,207	ND	ND	

8.4.8. *Condutância Estomática (g_s)*

	Tratamentos	Número Amostral	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	P
Fepagro	Controle	5	133,600	71,030	31,766	0,595
	Exposto	4	107,500	68,452	34,226	
Guapo	Controle	5	122,000	38,497	17,216	0,393
	Exposto	5	98,800	42,717	19,103	
Iraí	Controle	5	135,400	43,374	19,397	0,861
	Exposto	4	140,750	44,791	22,396	
Macotaço	Controle	5	101,600	47,857	21,402	0,730
	Exposto	4	95,500	48,720	24,360	
Pinto	Controle	5	135,200	96,492	43,153	ND
	Exposto	1	159,000	ND	ND	

8.4.9. *Transpiração (E)*

	Tratamentos	Número Amostral	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	P
Fepagro	Controle	5	0,942	0,359	0,160	0,440
	Exposto	4	0,775	0,211	0,106	
Guapo	Controle	5	0,766	0,178	0,079	0,213
	Exposto	5	0,624	0,153	0,069	
Iraí	Controle	5	0,792	0,234	0,105	0,091
	Exposto	4	1,065	0,166	0,083	
Macotaço	Controle	5	0,740	0,263	0,117	0,592
	Exposto	4	0,645	0,238	0,119	
Pinto	Controle	5	1,292	1,029	0,460	ND
	Exposto	1	1,110	ND	ND	

8.4.10. Razão Ci/Ca

	Tratamentos	Número Amostrai	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	P
Fepagro	Controle	5	0,721	0,173	0,078	0,375
	Exposto	4	0,812	0,089	0,044	
Guapo	Controle	5	0,741	0,149	0,067	0,421
	Exposto	5	0,802	0,060	0,027	
Iraí	Controle	5	0,720	0,102	0,045	0,410
	Exposto	4	0,786	0,123	0,062	
Macotaço	Controle	5	0,719	0,138	0,062	0,502
	Exposto	4	0,787	0,153	0,077	
Pinto	Controle	5	0,706	0,082	0,037	ND
	Exposto	1	0,932	ND	ND	

8.4.11. Eficiência no Uso da Água (WUE)

	Tratamentos	Número Amostrai	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	P
Fepagro	Controle	5	5,657	3,059	1,368	0,210
	Exposto	4	3,340	1,467	0,734	
Guapo	Controle	5	6,416	2,926	1,308	0,323
	Exposto	5	4,963	0,982	0,439	
Iraí	Controle	5	8,109	3,429	1,533	0,051
	Exposto	4	3,910	0,963	0,481	
Macotaço	Controle	5	6,348	2,944	1,317	0,573
	Exposto	4	5,063	3,597	1,798	
Pinto	Controle	5	5,802	2,614	1,169	ND
	Exposto	1	1,261	ND	ND	

8.4.12. Vazamento Relativo de Eletrólitos

	Tratamentos	Número Amostrai	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	P
Fepagro	Controle	5	28,699	13,802	6,173	0,311
	Exposto	5	47,102	35,480	15,867	
Guapo	Controle	5	19,787	3,248	1,453	0,119
	Exposto	4	28,008	9,839	4,920	
Iraí	Controle	5	33,981	11,835	5,293	0,422
	Exposto	5	28,040	10,332	4,621	
Macotaço	Controle	5	21,292	2,528	1,130	0,061
	Exposto	5	30,172	8,743	3,910	
Pinto	Controle	5	23,519	3,795	1,697	0,028
	Exposto	5	48,886	20,841	9,320	

8.5. Análise Estatística Experimento 5

8.5.1. Assimilação Líquida (A)

	Tratamentos	Número Amostrai	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	P
Fepagro	Controle	5	10,640	2,394	1,071	0,004
	Exposto	5	5,680	1,509	0,675	
Guapo	Controle	4	9,150	2,419	1,209	0,298
	Exposto	5	7,480	2,051	0,917	
Iraí	Controle	5	8,540	1,962	0,877	0,084
	Exposto	5	6,580	1,035	0,463	
Macotaço	Controle	5	10,180	1,693	0,757	0,106
	Exposto	5	8,100	1,907	0,853	
Pinto	Controle	5	10,600	1,956	0,875	0,006
	Exposto	5	5,840	2,122	0,949	

8.5.2. Assimilação Máxima (Amax)

	Tratamentos	Número Amostrai	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	P
Fepagro	Controle	5	18,560	6,036	2,699	0,110
	Exposto	5	12,520	4,467	1,998	
Guapo	Controle	4	19,044	6,178	3,089	0,206
	Exposto	5	14,871	2,511	1,123	
Iraí	Controle	5	20,205	5,069	2,267	0,048
	Exposto	5	13,931	3,256	1,456	
Macotaço	Controle	5	17,727	2,515	1,125	0,060
	Exposto	5	13,540	3,448	1,542	
Pinto	Controle	5	21,111	2,165	0,968	<0,001
	Exposto		11,586	3,378	1,511	

8.5.3. Eficiência de Carboxilação (ce)

	Tratamentos	Número Amostrai	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	P
Fepagro	Controle	5	0,144	0,061	0,027	0,222
	Exposto	5	0,108	0,071	0,032	
Guapo	Controle	4	0,090	0,048	0,024	0,853
	Exposto	5	0,095	0,019	0,008	
Iraí	Controle	5	0,121	0,024	0,011	0,828
	Exposto	5	0,112	0,086	0,039	
Macotaço	Controle	5	0,157	0,083	0,037	0,381
	Exposto	5	0,119	0,037	0,017	
Pinto	Controle	5	0,127	0,053	0,024	0,055
	Exposto	5	0,066	0,028	0,013	

8.5.4. Velocidade Máxima de Carboxilação da Rubisco (V_{cmax})

	Tratamentos	Número Amostral	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	P
Fepagro	Controle	5	53,220	20,014	8,950	0,135
	Exposto	5	34,500	15,336	6,858	
Guapo	Controle	4	42,775	20,677	10,338	0,493
	Exposto	5	36,020	4,406	1,971	
Iraí	Controle	5	46,800	9,629	4,306	0,736
	Exposto	5	42,680	24,602	11,002	
Macotaço	Controle	5	53,220	18,618	8,326	0,134
	Exposto	5	38,120	8,036	3,594	
Pinto	Controle	5	49,560	10,769	4,816	0,009
	Exposto	5	25,900	11,195	5,007	

8.5.5. Capacidade de Transporte de Elétrons (J_{max})

	Tratamentos	Número Amostral	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	P
Fepagro	Controle	5	93,040	32,231	14,414	0,103
	Exposto	5	61,440	20,757	9,283	
Guapo	Controle	4	83,225	29,250	14,625	0,341
	Exposto	5	69,820	5,423	2,425	
Iraí	Controle	5	94,200	20,289	9,073	0,163
	Exposto	5	72,540	24,083	10,770	
Macotaço	Controle	5	91,560	17,432	7,796	0,220
	Exposto	5	75,220	21,246	9,502	
Pinto	Controle	5	103,220	23,550	10,532	0,006
	Exposto	5	54,360	17,371	7,769	

8.5.6. Respiração

	Tratamentos	Número Amostral	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	P
Fepagro	Controle	5	1,532	0,432	0,193	0,282
	Exposto	5	1,147	0,609	0,272	
Guapo	Controle	4	1,408	0,463	0,231	0,450
	Exposto	5	1,686	0,556	0,249	
Iraí	Controle	5	1,574	0,527	0,236	0,602
	Exposto	5	1,772	0,622	0,278	
Macotaço	Controle	5	1,524	0,228	0,102	0,435
	Exposto	5	1,682	0,364	0,163	
Pinto	Controle	5	1,786	0,422	0,189	0,050
	Exposto	5	1,184	0,401	0,179	

8.5.7. Limitação Estomática (L_s)

	Tratamentos	Número Amostral	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	P
Fepagro	Controle	5	14,048	5,141	2,299	0,099
	Exposto	5	8,894	3,422	1,531	
Guapo	Controle	4	11,831	5,230	2,615	0,460
	Exposto	5	9,946	1,445	0,646	
Iraí	Controle	5	13,880	3,138	1,403	0,065
	Exposto	5	9,694	3,059	1,368	
Macotaço	Controle	5	13,486	3,198	1,430	0,113
	Exposto	5	10,139	2,727	1,219	
Pinto	Controle	5	14,363	3,688	1,649	0,009
	Exposto	5	7,320	2,686	1,201	

8.5.8. Condutância Estomática (g_s)

	Tratamentos	Número Amostral	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	P
Fepagro	Controle	5	174,000	15,149	6,775	< 0,001
	Exposto	5	78,800	30,277	13,540	
Guapo	Controle	4	180,500	23,188	11,594	0,187
	Exposto	5	129,400	65,870	29,458	
Iraí	Controle	5	118,800	44,263	19,795	0,953
	Exposto	5	120,600	49,823	22,281	
Macotaço	Controle	5	143,800	14,412	6,445	0,264
	Exposto	5	126,600	28,588	12,785	
Pinto	Controle	5	187,600	30,851	13,797	0,073
	Exposto	5	131,600	52,219	23,353	

8.5.9. Transpiração (E)

	Tratamentos	Número Amostral	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	P
Fepagro	Controle	5	2,790	0,158	0,071	< 0,001
	Exposto	5	1,616	0,463	0,207	
Guapo	Controle	4	2,793	0,157	0,079	0,214
	Exposto	5	2,222	0,812	0,363	
Iraí	Controle	5	2,158	0,532	0,238	0,923
	Exposto	5	2,120	0,668	0,299	
Macotaço	Controle	5	2,490	0,181	0,081	0,152
	Exposto	5	2,232	0,317	0,142	
Pinto	Controle	5	2,932	0,277	0,124	0,056
	Exposto	5	2,260	0,645	0,288	

8.5.10. Razão Ci/Ca

	Tratamentos	Número Amostral	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	P
Fepagro	Controle	5	0,604	0,061	0,027	0,508
	Exposto	5	0,568	0,100	0,045	
Guapo	Controle	4	0,663	0,062	0,031	0,276
	Exposto	5	0,611	0,068	0,030	
Iraí	Controle	5	0,548	0,072	0,032	0,458
	Exposto	5	0,611	0,166	0,074	
Macotaço	Controle	5	0,558	0,097	0,043	0,548
	Exposto	5	0,610	0,027	0,012	
Pinto	Controle	5	0,619	0,074	0,033	0,076
	Exposto	5	0,706	0,060	0,027	

8.5.11. Eficiência no Uso da Água (WUE)

	Tratamentos	Número Amostral	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	P
Fepagro	Controle	5	3,792	0,679	0,304	0,696
	Exposto	5	3,600	0,812	0,363	
Guapo	Controle	4	3,254	0,707	0,353	0,589
	Exposto	5	3,469	0,427	0,191	
Iraí	Controle	5	4,004	0,520	0,233	0,337
	Exposto	5	3,393	1,230	0,550	
Macotaço	Controle	5	4,140	0,963	0,431	0,548
	Exposto	5	3,594	0,393	0,176	
Pinto	Controle	5	3,643	0,735	0,329	0,045
	Exposto	5	2,605	0,643	0,287	

8.5.12. Vazamento Relativo de Eletrólitos

	Tratamentos	Número Amostral	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	P
Fepagro	Controle	5	21,123	4,244	1,898	0,481
	Exposto	5	19,108	4,390	1,963	
Guapo	Controle	4	19,520	3,930	1,960	0,063
	Exposto	5	16,150	0,980	0,436	
Iraí	Controle	5	34,721	21,594	9,657	0,230
	Exposto	5	22,006	3,424	1,531	
Macotaço	Controle	5	18,396	2,617	1,171	0,977
	Exposto	5	18,345	2,858	1,278	
Pinto	Controle	5	19,240	1,320	0,590	0,056
	Exposto	5	24,366	6,912	3,091	

8.6. Análise Estatística Experimento 6

8.6.1. Biomassa da Parte Aérea

	Tratamentos	Número Amostral	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	P
Fepagro	Controle	5	0,292	0,077	0,035	0,559
	Exposto	4	0,266	0,037	0,018	
Guapo	Controle	5	0,266	0,026	0,012	0,692
	Exposto	5	0,256	0,044	0,020	
Iraí	Controle	5	0,451	0,103	0,046	0,166
	Exposto	5	0,549	0,100	0,045	
Macotaço	Controle	5	0,307	0,053	0,024	0,369
	Exposto	5	0,279	0,036	0,016	
Pinto	Controle	5	0,385	0,039	0,017	0,121
	Exposto	5	0,332	0,057	0,026	

8.6.2. Biomassa da Raiz

	Tratamentos	Número Amostral	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	P
Fepagro	Controle	5	0,086	0,028	0,013	0,556
	Exposto	4	0,064	0,008	0,004	
Guapo	Controle	5	0,102	0,014	0,006	0,151
	Exposto	5	0,088	0,034	0,015	
Iraí	Controle	5	0,102	0,028	0,013	0,026
	Exposto	5	0,144	0,019	0,008	
Macotaço	Controle	5	0,123	0,022	0,010	0,200
	Exposto	5	0,087	0,017	0,008	
Pinto	Controle	5	0,112	0,031	0,014	0,162
	Exposto	5	0,137	0,020	0,009	

8.6.3. Biomassa Total da Plântula

	Tratamentos	Número Amostral	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	P
Fepagro	Controle	5	0,378	0,102	0,046	0,409
	Exposto	4	0,330	0,037	0,018	
Guapo	Controle	5	0,367	0,039	0,018	0,555
	Exposto	5	0,344	0,075	0,034	
Iraí	Controle	5	0,553	0,131	0,058	0,098
	Exposto	5	0,692	0,103	0,046	
Macotaço	Controle	5	0,430	0,073	0,033	0,145
	Exposto	5	0,366	0,049	0,022	
Pinto	Controle	5	0,497	0,064	0,029	0,508
	Exposto	5	0,469	0,064	0,029	

8.7. Análise Estatística Experimento 7

8.7.1. Abscisão Foliar

	Tratamentos	Número Amostral	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	P
Fepagro	Controle	5	42,700	2,683	1,200	0,051
	Exposto	5	39,000	2,424	1,084	
Guapo	Controle	5	37,100	1,597	0,714	0,004
	Exposto	5	33,900	0,742	0,332	
Iraí	Controle	5	34,500	3,202	1,432	0,548
	Exposto	5	33,000	0,612	0,274	
Macotaço	Controle	5	35,400	4,629	2,070	0,468
	Exposto	5	33,300	4,071	1,821	
Pinto	Controle	5	35,500	2,598	1,162	0,217
	Exposto	5	33,300	2,588	1,158	