



QUALIDADE DO AR DA CIDADE DE CAMPINA GRANDE-PB, POR MEIO DO MÉTODO SPORE-FALL

*Bruna Regina dos Santos Silva*¹. *Antonio Manoel da Silva Filho*². *Renata Priscila Almeida Silva*³. *Carlos Henrique Salvino Gadelha Meneses*^{4*}.

RESUMO

Leveduras do filoplano são susceptíveis a uma grande variedade de variações ambientais, tais como poluição do ar urbano e industrial. Pesquisas de qualidade do ar usando leveduras foliares como bioindicadores são pouco realizados no Brasil. Ao utilizar o método da queda de esporos, populações de leveduras foliares foram pesquisadas a partir da filosfera de *Tabebuia* sp., espécie de árvores de grande propagação em ambientes urbanos do Brasil. Dois locais da cidade de Campina Grande-PB foram selecionados, representando alto nível de poluição (Centro da cidade) e ar de boa qualidade (viveiro de plantas da UEPB), folhas das árvores foram coletadas no inverno e no verão de 2012 e 2013. Os resultados demonstraram contagens mais baixas de leveduras foliares para a área urbana indicando que estas leveduras são sensíveis aos poluentes do ar, especificamente para dióxido enxofre. A maioria das leveduras isoladas pertencia à espécie *Sporobolomyces roseus*, uma espécie basidiomiceto. Outras leveduras ballistosporos, colônias das quais eram tipicamente brancas, foram raramente isolada pelo método utilizado (<5%). Os resultados podem ter validade para outras áreas tropicais onde os estudos devem ser abordados ao prático uso de leveduras foliares como bioindicadores para monitoramento da qualidade do ar.

UNITERMOS: Bioindicador, Poluição do Ar, Leveduras

ABSTRACT

Phylloplane yeasts are susceptible to a wide variety of environmental fluctuations such as urban and industrial air pollution. Surveys of air quality using leaf yeasts as bioindicators have little bit been carried out in Brazil. By using the spore-fall method, leafyeast populations were surveyed from the phyllosphere of *Tabebuia* sp., widespread tree species in urban environments of Brazil. Two locations from Campina Grande-PB, representing high pollution level (Town center) and air good quality (arboretum of UEPB), were leaf tree sampled in winter and summer seasons of 2012 and 2013. The results demonstrated lower counts of leafyeast for urban area indicating that such yeasts are sensitives to pollutants of the air, specifically to sulphur dioxide. The most common yeast isolated was *Sporobolomyces roseus*, a ballistosporous basidiomycete species. Other ballistosporous yeasts, colonies of which were typically white, were infrequently isolated by the used method (< 5%). The results may have validity for other tropical areas where studies should be addressed to the practical use of leafyeasts as bioindicators for monitoring the air quality.

UNITERMS: Bioindicator, Air Pollution, Yeasts

¹ Bacharelado do curso de Agroecologia – Universidade Estadual da Paraíba, Lagoa Seca – PB, Brasil, bruna-reggina@hotmail.com



^{2 e 3} Mestrandos pelo Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande – PB, Brasil, antonio.uepb@gmail.com; re.priscilaalmeida@hotmail.com

⁴ Professor do Departamento de Agroecologia / Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande – PB, Brasil, carlos@ccaa.uepb.edu.br

INTRODUÇÃO

A poluição do ar passou a ser considerado um problema ligado à saúde pública a partir da Revolução Industrial, quando começaram a ser adotadas técnicas baseadas na queima de grandes quantidades de carvão, lenha e, posteriormente, óleos combustíveis. No Brasil, não temos o monitoramento da qualidade do ar em todos os estados, apenas alguns o fazem, como o estado de São Paulo que faz esse monitoramento de forma periódica e contínua.

A superfície foliar das plantas, denominada filosfera, suporta o crescimento de uma microbiota diversificada de bactérias e de fungos através da utilização dos recursos disponíveis neste habitat (Jacques e Morris, 1995; Newsham et al., 1997; Mercier e Lindow, 2000; Jacobs e Sundin, 2001; Stohr e Dighton, 2004). Portanto, os microorganismos do filoplano ocupam posições de destaque na copa das plantas. Dentre estes microrganismos da filosfera epifítica, as leveduras são encontradas em uma ampla variedade de árvores em regiões temperadas e tropicais (Dowding e Richardson, 1990; Dowding e Peacock, 1991; Nakase et al., 2005).

Elas existem tanto como pequeno número de colônias e células individuais concentradas nas junções entre as células epidérmicas de folhas. As colônias aumentam em tamanho por germinação, como fazem as verdadeiras leveduras, mas também ativamente liberam esporos, principalmente durante a noite (Dowding e Richardson, 1990). Uma vez que as folhas de plantas superiores foram evoluídas como órgãos de trocas de gasosas, em sua posição relativamente exposta, podem agir poluentes muito eficazes na morte celular destes microrganismos. Leveduras foliares estão, portanto, em uma posição físico-química muito exposta sobre efeitos de poluentes gasosos e de partículas do ar, como o ozônio, metais pesados e dióxido de enxofre (Magan e Mcleod, 1991; Magan et al., 1995; Vassileva et al., 2000).

Dowding e Carvill (1980) foram os primeiros a relatar a influência negativa de ambientes urbanos em *Sporobolomyces* spp. presentes em folhas de plantas crescendo em uma série de áreas urbanas da Irlanda. Estudos adicionais revelaram que populações de fungos e leveduras foliares eram particularmente sensíveis aos poluentes do ar, principalmente ao dióxido enxofre (Dowding e Richardson, 1990; Dowding e Peacock, 1991; Fellner e Pesková, 1995; Terziyska et al., 2000). Nakase et al. (2003; 2005), no decurso de uma pesquisa das leveduras presentes na filosfera de plantas em Taiwan, encontraram estirpes de leveduras pertencentes ao gênero *Sporobolomyces*.

No entanto, existem poucos relatos publicados sobre o padrão de qualidade do ar revelado pelo impacto da poluição sobre populações de leveduras foliares em árvores urbanas no Brasil.

Em face da falta de dados relativos à qualidade do ar no município de Campina Grande/PB, este trabalho torna-se o primeiro indicativo da qualidade do ar em uma das principais avenidas e também no Horto Florestal da cidade de Campina Grande-PB, utilizando técnica da queda de esporos (método spore-fall) usando leveduras em folha como bioindicadores, pois são microrganismos sensíveis a dióxido de enxofre e dióxido de carbono, poluentes estes que são emitidos pelos veículos, e por se tratar de um



método simples, rápido e que não requer equipamentos sofisticados e o baixo custo. A análise e avaliação do crescimento e densidade das leveduras como bioindicativo da qualidade do ar foram feitas considerando as interferências naturais e de fluxo de veículos nos pontos amostrados.

O objetivo do presente trabalho foi isolar leveduras do gênero *ballistosporous* da filosfera de *Tabebuia* sp. (ipê), espécie de árvores de grande propagação no ambiente urbano do Brasil. Dois pontos da cidade de Campina Grande-PB (Nordeste do Brasil) foram escolhidos para serem estudados no inverno e no verão de 2012/2013, um representando o alto nível de poluição da atividade urbana (centro da cidade de Campina Grande-PB) e o outro, representado a alta qualidade do ar (Viveiro de plantas da UEPB, Campus I, Campina Grande-PB).

MATERIAL E MÉTODOS

Locais de estudo

Amostras foliares de *Tabebuia* sp. (Ipê) foram coletadas no centro da área urbana de Campina Grande – PB, ponto 1, (07° 13' 54,76" S, 35° 52' 10,28" W), a 551 m acima do nível do mar e no Viveiro de plantas da UEPB, Campus I, Campina Grande-PB, ponto 2, (07° 12' 42,99" S, 35° 54' 36,27" W), cidade do Nordeste do Brasil. O clima da cidade é Aw'i no verão, com precipitação abundante durante os meses de inverno. A média anual de precipitações é cerca de 850 mm. Na coleta de folhas, a temperatura / umidade do ar foi de 28°C / 56% (verão) e 23°C / 66% (inverno).

Amostras foliares

Folhas de *Tabebuia* sp., cultivada em área urbana de Campina Grande e na mata do IBAMA em Lagoa Seca, foram marcadas e mapeadas usando um sistema de GPS. Em cada árvore foram escolhidos de forma aleatória três folhas verdes nas orientações Norte (N), Sul (S), Leste (E) e Oeste (W). As folhas foram transferidas, sob arrefecimento para o laboratório de Ecofisiologia vegetal do Campus I da Universidade Estadual da Paraíba.

Para isolar as leveduras balistosporos do filoplano foliar, foi utilizado o método da queda de esporos de acordo com Dowding e Peacock (1991). Assim, seis discos foliares com 1 (um) cm de diâmetro foram cortados em torno da nervura central das folhas de cada uma das árvores amostradas. Estes discos foram presos por sua superfície adaxial (superior) em tampas de placas de Petri, usando uma gota de vaselina. As tampas foram colocadas, em placas de Petri contendo meio agar de malte 2,5 %. As placas foram incubadas à temperatura ambiente e após 24 horas foram invertidas e incubadas durante mais 72 horas. Após o tempo de incubação, o número de colônias, cor-de-rosa na sua maioria, em cada disco foliar foram contadas, registradas e identificadas, onde todas as colônias de leveduras foram identificadas de acordo com o método descrito abaixo.

Cada colônia de levedura foi caracterizada e identificada morfológicamente pela norma estabelecida por Yarrow (1998). As identificações foram baseadas nas chaves de Kurtzman e Caiu (1998).

Os dados foram analisados em parcelas subdivididas em delineamento inteiramente casualizado, as parcelas foram representadas por cada árvore e parcelas subdivididas foram representadas pelas direções (N, S, E e W). A análise estatística foi realizada utilizando modelo apropriado PROC MIXED do programa estatístico SAS 8.02 (SAS INSTITUTE, 2004). Devido à má distribuição das colônias de leveduras os



dados não são distribuídos de forma normalizada, assim os dados foram transformados em \log_{10} .

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As Tabelas 1 e 2 resumem as análises de contagens de leveduras em folhas para as duas coletas realizadas, onde, uma variação significativa na contagem dos diferentes locais foi verificada.

Tabela 1. Análise conjunta das contagens das colônias de leveduras foliares isoladas das árvores de *Tabebuia* sp. coletadas no ponto 1 e no ponto 2, no período de verão.

		Ponto 1	Ponto 2
Direção	N	1,01 \pm 0,23 Ab	2,03 \pm 0,18 Aa
	S	1,10 \pm 0,28 Ab	2,22 \pm 0,11 Aa
	E	0,98 \pm 0,26 Ab	2,38 \pm 0,21 Aa
	W	0,62 \pm 0,29 Bb	1,21 \pm 0,13 Ba

Média transformado em \log_{10} . Os valores seguidos por letras minúsculas diferentes são significativamente diferentes pelo teste de Tukey-Kramer ($p < 0,1$) e valores seguidos por letras maiúsculas diferentes são significativamente diferentes pelo teste teste F ($p < 0,01$).

Em todos os pontos de coleta pode-se observar que houve diferença na densidade de leveduras quanto à orientação Norte, Sul, Leste e Oeste. Tal fato se deve à direção dos ventos que influencia o carregamento de poluentes. De acordo com Valarini (2007) este resultado demonstra a influência da direção dos ventos em carregar e espalhar os poluentes do ar através do meio ambiente, alterando os padrões e níveis de poluição mesmo próximo da fonte.

No ponto 1 onde o fluxo de veículos é intenso, e portanto, áreas de maior emissão de gases, houve baixa produção de leveduras, devido que a mortalidade populacional dos microrganismos de superfície de plantas é caracterizada pela grande flutuação da emissão de gases poluentes, assim sofrendo influências das condições ambientais. Rápidas mudanças de condições favoráveis (baixa emissão de gases, alta umidade e baixo nível de radiação) para condições desfavoráveis (alta emissão de gases, altas temperaturas e níveis elevados de radiação), o que pode ocorrer num curto espaço de tempo, são seguidos por rápidas mudanças na densidade e no número de microrganismos epifíticos. (Leben, 1988; Inácio, et al, 2005; apud Sperandio, 2012).

Neushman et.al., (1997), em seus estudos sobre a influência da radiação ultravioleta-B sobre a abundância e distribuição de leveduras no filoplano em carvalhos, constatou que há reduções significativas na produção de leveduras quando as folhas são submetidas à radiação ultravioleta-B. As árvores no ponto 1 estão num local que há incidência direta de radiação, o que auxilia também na mortalidade de leveduras.

Houve diminuição na densidade de leveduras na segunda amostragem com exceção do ponto 2, o que pode ser um indicativo de melhora da qualidade do ar. A espécie de *Tabebuia* sp. coletada no ponto 2 apresentou grande densidade de leveduras na primeira coleta, embora esteja circundada por avenidas movimentadas, onde a concentração de poluentes pode ser grande. As folhas foram retiradas de uma árvore baixa, cercada por árvores maiores. Um grupo de árvores ou cinturão ou cortina florestal pode desenvolver outro tipo de efeito no processo de retenção dos poluentes,



que é o efeito “passivo”, o qual resulta do fato das árvores funcionarem como obstáculos físicos às correntes de vento e, conseqüentemente, de poluentes.

Tabela 2. Análise conjunta das contagens das colônias de leveduras foliares isoladas das árvores de *Tabebuia* sp. coletadas no ponto 1 e no ponto 2, no período de inverno.

		Ponto 1	Ponto 2
Direção	N	0,99 ±0,11 Ab	2,10 ±0,13 Aa
	S	1,02 ±0,22 Ab	2,47 ±0,15 Aa
	E	1,06 ±0,14 Ab	2,45 ±0,16 Aa
	W	1,01 ±0,13 Bb	1,51 ±0,19 Ba

Média transformado em \log_{10} . Os valores seguidos por letras minúsculas, comparação entre as coordenadas geográficas da coleta, diferentes são significativamente diferentes pelo teste de Tukey-Kramer ($p < 0,1$) e valores seguidos por letras maiúsculas, comparação entre os pontos 1 e 2, diferentes são significativamente diferentes pelo teste teste F ($p < 0,01$).

Dependendo de outras condições (fisiográficas, meteorológicas, etc.), este efeito passivo é importante na purificação do ar (Jensen et al, 1976 apud Lima, 1980). Desta forma, pode-se resumir que as árvores funcionam como armadilhas potenciais para os poluentes atmosféricos.

Na segunda amostragem no ponto 2 houve um aumento na densidade de leveduras, pois, através das células vegetativas imersas em meio aquoso, os gases podem ser metabolizados e translocados para outras partes da planta, como nas folhas, ramos e troncos, elas podem filtrar as partículas do ar, por meio da ação da velocidade do vento sobre as partículas facilitando a deposição das mesmas, e também servem como filtro de partículas do ar, pelo processo de lavagem pela água das chuvas, funcionando como eficientes absorvedores da poluição do ar, desta forma, pode-se resumir que as árvores funcionam como armadilhas potenciais para os poluentes atmosféricos (Lima, apud Bennett & Hill, 1975).

A segunda amostragem foi feita após um intervalo de 7 (sete) dias e durante esse intervalo houve intensa precipitação que alcançou um acumulado de 185 milímetros, sendo assim, no ponto 2 houve um aumento de aproximadamente 92% por área foliar enquanto no ponto 1 houve um aumento de 90%. A diferença pode ser atribuída a diversos fatores, como: O ponto 1 está circundado por avenidas e ruas, todas de intenso tráfego de veículos automotivos; Devido a sua localização e formação, a pluma de contaminação tende a pousar sobre as folhas das árvores de copa alta; Pela intensa precipitação houve um processo de lavagem e a contaminação que estava na parte superior das árvores.

Com relação ao ponto 2 este está afastado das avenidas de tráfego intenso em um raio de 200 metros, por se tratar de um local fechado pela vegetação, houve grande



crescimento de leveduras. Depois do período de chuvas houve uma possível lavagem das folhas e um consequente aumento da população de leveduras.

CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

A metodologia aplicada é válida e extensiva para analisar a qualidade do ar em diferentes regiões tropicais ou temperadas do planeta, porém é necessário ser cuidadoso para se tirar conclusões acerca de experiências deste tipo e devendo-se fazer uma investigação mais aprofundada devido às interferências de fenômenos naturais.

Recomenda-se que se façam amostragens comparativas durante o período chuvoso e seco, pois a umidade e intensidade de precipitação interferem na população de leveduras. Além de selecionar mais pontos de coleta que possam ser representativos quanto à poluição atmosférica, tomando-se o cuidado para se escolher pontos com mesmas características meteorológicas, físicas e ambientais. Também se recomenda a identificação, através da Biologia molecular, das espécies de leveduras presentes com o intuito de associar características peculiares ao ambiente estudado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Dowding, P.; Carvill, P. H. (1980). A reduction of counts of *Sporobolomyces roseus* Kluver on ash (*Fraxinus excelsior* L.) leaves in Dublin City. *Irish Journal of Environmental Science*.1: 65-68.
- Dowding, P.; Peacock, J. 1991. The use of leaf surface inhabiting yeast as monitors of air pollution by sulphur dioxide. In: *Bioindicators and environmental management*, Jeffrey, D.W.; Madden, B. (eds.) pp. 322-342, Academic Press Limited, London, U.K.
- Dowding, P.; Richardson, D.H.S. 1990. Leaf yeast as indicators of air quality in Europe. *Environmental Pollution*, 66, 223-235.
- Fellner, R.; Pesková, V. 1995. Effects of industrial pollutants on ectomycorrhizal relationships in temperate forests. *Canadian Journal of Botany*, 73 (Suppl. 1), S1310-S1315.
- Jacobs, J.L.; Sundin, G.W. 2001. Effect of solar UV-B radiation on a phyllosphere bacterial community. *Applied and Environmental Microbiology*, v.67, 5488-5496.
- Jacques, M. A.; Morris, E. M. 1995. A review of issues related to the quantification of bacteria from the phyllosphere. *FEMS Microbiology Ecology*, 18, 1-14.
- Kurtzman, C. P.; Fell, J. W. *The Yeasts - A taxonomic study*. 4th ed. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 1998.
- Magan, N.; Kirkwood, I. A.; Mcleod, A. R.; Smith, M.K. 1995. Effect of open-air fumigation with sulphur dioxide and ozone on phyllosphere and endophytic fungi of conifer needles. *Plant, Cell & Environment*, 18, 291-302.



- Magan, N.; Mcleod, A. R. 1991. Effect of open-air fumigation with sulphur dioxide on the occurrence of phylloplane fungi on winter barley. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 33, 245-261.
- Mercier, J.; Lindow, S. E. 2000. Role of leaf surface sugars in colonization of plants by bacterial epiphytes. *Applied and Environmental Microbiology*, 66, 369-374.
- Nakase, T. S.; Lee, F. L.; Sugita, T.; Jindamorakot, S.; Jan-Ngam, H.; Potacharoen, W.; Tanticharoen, M.; Kudo, T.; Takashima, M. 2003. *Sporobolomyces magnisporus* sp. nov., a new yeast species in the *Erythrobasidium* cluster isolated from plants in Taiwan. *Journal General Applied Microbiology*, 49, 337-344.
- Nakase, T.; Lee, F-L.; Am-In, S.; Jindamorakot, S.; Potachararoen, W.; Tanticharoen, M., Takashima, M. J. 2005. *Sporobolomyces fushanensis* sp. nov., a new species of ballistoconidium-forming yeast in the *Microbotryum* lineage isolated from a plant in Taiwan. *Journal General Applied Microbiology*, 51: 41-45.
- Newsham, K. K.; Low, M. N. R.; Mcleod, A. R.; Greenslade, P. D.; Emmett, B. A. 1997. Ultraviolet-B radiation influences the abundance and distribution of phylloplane fungi on pedunculate oak (*Quercus robur*). *New Phytologist*, 136, 287-297.
- Sas Institute, 2004. *SAS/STAT Software: changes and enhancements through release 8.2*. Cary: Statistical System Institute. 1028p.
- Stohr, S. N.; Dighton, J. 2004. Effects of species diversity on establishment and coexistence: a phylloplane fungal community model system. *Microbial Ecology*. 48, 431-438.
- Terziyska, A.; Waltschewa, L.; Venkov, P. 2000. A new sensitive test based on yeast cells for studying environmental pollution. *Environmental Pollution*, 109, 43-52.
- Vassileva, E.; Velev, V.; Daiev, C.; Stoichev, T.; Martin, M.; Robein, D.; Haerdi, W. 2000. Assessment of heavy metals air pollution in urban and industrial environments using oak leaves as bioindicators. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 78, 159-173.
- Yarrow, D. 1998. Methods for the isolation, maintenance and identification of yeasts. In: Kurtzman C. P. and Fell J. W. (eds), *The Yeast – A Taxonomic study*. Elsevier, Science Publishers, Amsterdam, The Netherlands, p. 86.