

## Biomonitoramento *indoor* do potencial mutagênico do ar em laboratórios e herbário do Instituto de Botânica por meio do bioensaio Trad-MCN

Edenise Segala Alves<sup>1,3</sup>, Andréa Nunes Vaz Pedroso<sup>1</sup>, Marisa Domingos<sup>1</sup>, Eliane Tigre Guimarães<sup>2</sup> e Paulo Hilário Nascimento Saldiva<sup>2</sup>

Recebido: 07.01.2003; aceito: 14.04.2003

**ABSTRACT** - (Indoor biomonitoring of mutagenic potential of air in laboratories and herbarium of Instituto de Botânica using the Trad-MCN bioassay). The Trad-MCN bioassay using *Tradescantia pallida* "Purpurea" has been successfully employed to qualify the environment air, which is contaminated by mutagens. So, the aim of this study was to monitor with the Trad-MCN bioassay the mutagenic potential of air in different plant research laboratories and the Herbarium of Instituto de Botânica, where varied chemical substances are used in analysis and naphthalene is applied as insecticide, respectively. Cuttings of young inflorescences were put in beakers with nutritive solution and exposed for eight hours in those environments. The protocol bioassay established for clones of *Tradescantia* was used. The micronucleus frequencies observed were statistically compared with those obtained in a negative control (cuttings in nutritive solution exposed in an environment free of chemical contaminants) and in a positive control (cuttings in 10 ppm formaldehyde solution exposed in an environment free of chemical contaminants). During most of the exposure days, the levels of mutagens in the air of the research laboratories were not high enough to elevate the micronucleus frequencies. However, in some days increased micronucleus frequencies (varying from 2.3 to 8.4%) were registered in inflorescences exposed in the Anatomy, Phycology and Biochemistry laboratories compared to those measured in the negative control group, indicating in some moments higher mutagenic risk to the researchers. In all sampling days, the average micronucleus frequency (7.9%) measured in flowers exposed in the Herbarium collection area was statistically higher than in flowers from the negative control (3.2%) and was similar to the frequency obtained in the positive control (7.4%). We concluded that the Trad-MCN assay is an useful tool for routine indoor biomonitoring in environments where chemical substances are used.

**Key words:** *indoor* biomonitoring, Trad-MCN, air quality, plant research laboratories, Herbarium

**RESUMO** - (Biomonitoramento *indoor* do potencial mutagênico do ar em laboratórios e herbário do Instituto de Botânica por meio do bioensaio Trad-MCN). O bioensaio Trad-MCN, desenvolvido com a espécie *Tradescantia pallida* "Purpurea", tem se mostrado apropriado para qualificar ambientes submetidos a agentes químicos. Assim, o presente estudo teve como objetivo monitorar, através do bioensaio Trad-MCN, o potencial mutagênico do ar ambiente de laboratórios de pesquisa vegetal, onde são empregadas substâncias químicas, e do herbário de fanerógamas, onde o naftaleno é empregado como inseticida. Inflorescências jovens foram expostas por oito horas nesses ambientes, em béqueres contendo solução nutritiva. Seguiu-se o protocolo já consagrado para os clones de *Tradescantia*. As frequências médias de micronúcleos obtidas nos diferentes ambientes foram comparadas estatisticamente às obtidas em um controle negativo (inflorescências em solução nutritiva expostas em ambiente isento de contaminantes químicos) e em um controle positivo (inflorescências em solução de 10 ppm de formaldeído, expostas em ambiente isento de contaminantes químicos). Na maior parte dos dias avaliados, não se constatou a presença de substâncias mutagênicas no ambiente dos laboratórios de pesquisa em concentração suficientemente alta para elevar a frequência de micronúcleos. Em algumas datas, no entanto, nos laboratórios de Anatomia, de Ficologia e de Bioquímica, foi detectado um aumento da frequência de micronúcleos (variação entre 2,3 e 8,4%) em relação ao observado no controle negativo, indicando momentos de maior risco mutagênico aos usuários desses locais. Na área da coleção do Herbário, a frequência de micronúcleos foi em média de 7,9%, sendo significativamente superior à frequência obtida no controle negativo (3,2%) e semelhante à do controle positivo (7,4% em média) em todos os dias de amostragem. Conclui-se que o bioensaio pode ser utilizado de forma rotineira para monitorar a qualidade do ar de ambientes fechados submetidos a agentes químicos.

**Palavras-chave:** biomonitoramento *indoor*, Trad-MCN, qualidade do ar, laboratórios de pesquisa vegetais, herbário

1. Instituto de Botânica, Caixa Postal 4005, 01061-970 São Paulo, SP, Brasil.

2. Laboratório de Poluição Atmosférica Experimental, Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina USP, Av. Dr. Arnaldo 455, 01246-903 São Paulo, SP, Brasil.

3. Autor para correspondência: esegala@terra.com.br

## Introdução

Algumas plantas são reconhecidas como excelentes indicadoras de efeitos citogenéticos e mutagênicos, podendo ser usadas tanto em ambientes fechados (*indoor*) quanto abertos (*in situ*) (Grant 1999). Alguns bioensaios, que utilizam vegetais superiores para testar e monitorar o grau de toxicidade de agentes genotóxicos presentes no ambiente, são muito fidedignos e apresentam alta sensibilidade, podendo detectar tais agentes mesmo em baixas concentrações.

Entre esses bioensaios está o Trad-MCN, que foi padronizado para ser aplicado com vários clones de *Tradescantia* (Commelinaceae), uma vez que plantas deste gênero possuem grande sensibilidade a agentes tóxicos, apresentando aberrações cromossômicas fáceis de serem identificadas (Ma et al. 1978, 1983, 1996, Rodrigues et al. 1996a, Fomin & Hafner 1998, Mohammed & Ma 1999, Monarca et al. 2001). O bioensaio Trad-MCN consiste na contagem de micronúcleos, que são porções de cromossomo rompidas por mutação e expulsas do núcleo, formados ao lado dos núcleos de células-mãe de grãos de pólen na fase de tétrades jovens quando expostas a agentes mutagênicos (Ma 1983). O aumento na frequência de formação de micronúcleos, acima do valor espontâneo esperado é, portanto, um indicativo seguro de que as inflorescências estiveram em contato com agentes mutagênicos. O bioensaio é realizado através da exposição de inflorescências jovens aos supostos agentes mutagênicos, que podem estar presentes em meio sólido, líquido ou gasoso. As mesmas, no momento da exposição, deverão conter botões cujas células formadoras de grãos de pólen estarão na prófase I da meiose, podendo ocorrer imediatamente dano ao DNA, que, no entanto, somente será visualizado na forma de micronúcleos após um período de aproximadamente 24 horas, quando a meiose terá prosseguido e as células-mãe estarão na fase de tétrades. Os cromossomos em divisão meiótica são mais sensíveis à quebra que os cromossomos em divisão mitótica, e a prófase I meiótica, especialmente durante o paquíteno e o diplóteno, é o estágio mais susceptível à influência de agentes genotóxicos (Steinitz 1944).

Estudos recentes demonstraram, tanto sob condições experimentais quanto através de biomonitoramento *insitu*, que o bioensaio Trad-MCN pode ser desenvolvido com inflorescências de *Tradescantia pallida* (Rose) D.R. Hunt "Purpurea"

Boom para monitorar o potencial mutagênico de substâncias químicas e de poluentes aéreos, tão eficientemente quanto com inflorescências de clones de *Tradescantia* especialmente desenvolvidos para tal finalidade (Batalha et al. 1999, Guimarães et al. 2000, Suyama et al. 2002). Miyazato (1999) mostrou que esse bioensaio, aplicado com inflorescências de *T. pallida*, pode ser igualmente eficaz para avaliação de qualidade do ar em ambientes fechados, como laboratórios de análises clínicas do Hospital das Clínicas de São Paulo, onde são manuseados freqüentemente solventes orgânicos como tolueno e n-hexano. Essa autora constatou, ainda, grande aceitação do bioensaio por parte dos técnicos alocados nos laboratórios avaliados, que passaram a dar mais atenção às normas de segurança que minimizam a contaminação ambiental.

Estas descobertas abriram um novo campo de pesquisa na área ambiental e de medicina do trabalho, especialmente para locais onde as condições climáticas são desfavoráveis à manutenção de exemplares dos clones de *Tradescantia* em floração constante. Temperaturas acima de 20°C, alta umidade relativa e fotoperíodos inferiores a 16 horas, comumente registrados em São Paulo, por exemplo, restringem a produção dos clones a estufas com climatização, além de serem favoráveis ao desenvolvimento de doenças e pragas, exigindo cuidados especiais. *T. pallida* "Purpurea", por sua vez, apesar de não ser geneticamente uniforme, é uma cultivar muito adaptada a essas condições climáticas, sendo bastante rústica e resistente a doenças e pragas e, por isso, seu cultivo é facilitado. É, portanto, uma planta bioindicadora muito versátil, podendo ser utilizada para biomonitoramento de ambientes abertos ou fechados.

Considerando tal versatilidade, o presente estudo teve como objetivo monitorar, através do bioensaio Trad-MCN com *T. pallida* "Purpurea", o potencial mutagênico do ar ambiente de diferentes laboratórios de pesquisa e do herbário de fanerógamas sediados no Instituto de Botânica, onde, respectivamente, substâncias químicas potencialmente tóxicas são periodicamente manipuladas durante procedimentos analíticos e o produto comercial naftaleno é aplicado para conservação de exsiccatas.

## Material e métodos

Locais de estudo - o Instituto de Botânica é uma instituição de pesquisa da Secretaria de Meio

Ambiente do estado de São Paulo, onde são desenvolvidos estudos taxonômicos, ecológicos, morfológicos, fisiológicos, entre outros, em todos os grupos vegetais e em fungos. A instituição abriga o segundo maior herbário de fanerógamas do Brasil, com cerca de 370.000 exsicatas. O biomonitoramento *indoor* foi realizado em quatro de seus laboratórios e na área da coleção de fanerógamas do herbário. Na tabela 1, são apresentadas características dos locais escolhidos para realizar o estudo. Em cada local, o bioensaio foi aplicado nove vezes, com intervalo de cerca de 30 dias entre eles, no período de 14/09/99 a 25/04/00.

Bioensaio Trad-MCN - em todas as datas de realização do bioensaio, as inflorescências foram retiradas de matrizes provenientes de uma mesma população de *T. pallida* "Purpurea", as quais foram cultivadas em substrato padronizado (casca de *Pinus* e vermiculita 3:1) em vasos plásticos e expostas a sol pleno. As inflorescências, com pedúnculo entre 10 a 15 cm de comprimento, foram coletadas 24 horas antes da exposição e mantidas durante esse período, para adaptação, em béqueres com solução nutritiva preparada de acordo com método descrito em Epstein (1975), sob aeração contínua com bomba de aquário, em ambiente isento de substâncias químicas (sala de reuniões da seção de Ecologia, tabela 1). A seguir, os béqueres com 15 inflorescências cada foram distribuídos nos locais avaliados (um por local) onde permaneceram por oito horas. Em cada local os

béqueres foram expostos nas bancadas dos laboratórios ao lado dos usuários dos agentes químicos. Na área da coleção do herbário, as inflorescências foram mantidas nas bancadas que acompanham as janelas do espaço que abriga 219 armários de aço contendo exsicatas.

Simultaneamente à exposição nos locais a serem avaliados, foram mantidos por oito horas, dois conjuntos de inflorescências no mesmo local utilizado para o período de adaptação (isento de substâncias químicas), que representaram respectivamente o controle negativo (inflorescências mantidas em solução de Hoagland) e o controle positivo (inflorescências mantidas em solução de formaldeído 10 ppm). O formaldeído foi usado como controle positivo, pois reconhecidamente provoca mutagênese e leva ao aumento da frequência de micronúcleos nas células-mãe de grãos de pólen de *Tradescantia* (Ma et al. 1984, Rodrigues et al. 1996b, Xu & Ma 1998).

Após as oito horas de exposição em cada ambiente, as inflorescências foram transferidas por mais 24 horas para o local isento de substâncias químicas para o período de recuperação, no qual as células-mãe dos grãos de pólen atingiram a fase de tétrades, após o que foram fixadas em solução de ácido acético glacial e etanol 95% (1:3) por 24 horas e, então, armazenadas em etanol 95%. Após 48 horas de armazenamento, iniciou-se a preparação das lâminas para a contagem de micronúcleos. Para tanto, empregou-se o protocolo estabelecido por Ma (1981),

Tabela 1. Caracterização dos locais do Instituto de Botânica onde foi aplicado o bioensaio Trad-MCN (contagem de fragmentos de DNA, micronúcleos, em *Tradescantia*).

Locais	Dimensões	Sistema de ventilação	Sistema de exaustão	Substâncias empregadas	Atividades desenvolvidas no local
Laboratório de Anatomia	16 m <sup>2</sup>	Janelas	Ausente	Acetato de butila, ácido acético, formol, corantes histológicos, hipoclorito de sódio, hidróxido de sódio, séries alcoólicas, xilol	Técnicas histológicas com tecidos vegetais
Laboratório de Ficologia	36 m <sup>2</sup>	Janelas	Ausente	Ácido clorídrico, cloral hidratado, formol	Observação de algas marinhas
Laboratório de Bioquímica/ cromatografia	23 m <sup>2</sup>	Janelas	Ausente	Acetato de etila, acetato de sódio, ácido acético, butanol, etanol, metanol	Análises cromatográficas
Laboratório de Bioquímica/ eletroforese	11 m <sup>2</sup>	Ar condicionado	Ausente	Acido sulfúrico, antrona, borax, butanol, fenol, metanol	Dosagem de carboidratos
Herbário/área da coleção	350 m <sup>2</sup>	Janelas sempre fechadas	Ausente	Naftaleno	Armazenamento de exsicatas de fanerógamas
Sala de reuniões/ Seção de Ecologia	36 m <sup>2</sup>	Janelas	Ausente	Isenta de substâncias químicas	Reuniões

que consistiu na escolha de inflorescências com botões jovens, que foram dissecados com auxílio de estiletos, sendo suas anteras retiradas e maceradas sobre lâmina de vidro com uma gota de solução de corante aceto-carmim (Roth 1964). Após a maceração, retiraram-se os fragmentos de anteras (“debris”), depositou-se a lamínula sobre o material e aqueceu-se a lâmina repetidamente a 80°C para a fixação do corante. Finalizando o processo, a lamínula foi suavemente pressionada com o auxílio de papel absorvente, o que garantiu a remoção do excesso de corante e provocou o achatamento das tétrades permitindo, assim, uma melhor visualização dos micronúcleos.

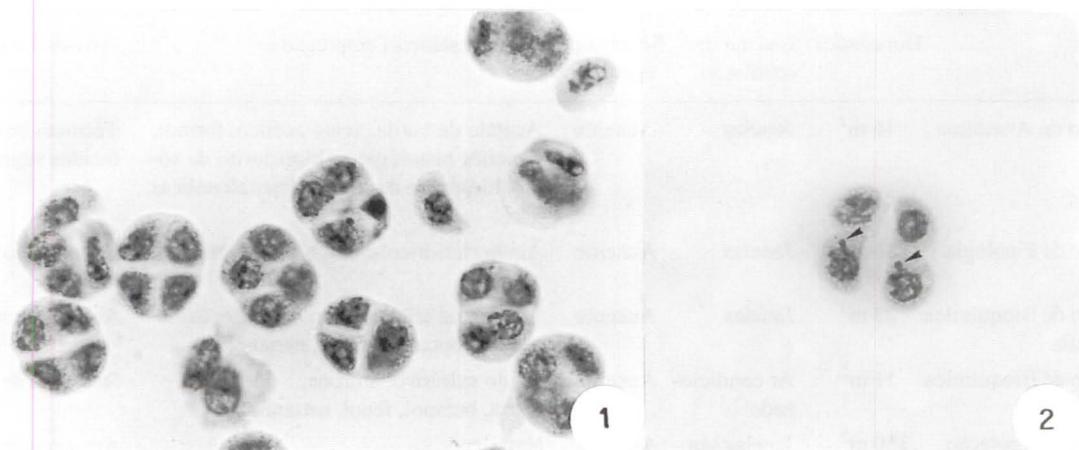
Para garantir uma contagem idônea, todas as lâminas foram codificadas desconhecendo-se, no momento da contagem, a procedência do material; a decodificação foi realizada somente ao final do processo. A contagem foi realizada ao microscópio óptico, sob magnificação de 400× em grupo aleatório de 300 tétrades, onde foram contadas separadamente as tétrades normais e as tétrades que apresentaram um ou mais micronúcleos. Para cada ambiente amostrado, com vistas à análise estatística, foi quantificado o número mínimo de 10 lâminas.

Análise estatística - resultados obtidos foram avaliados através da análise de variância não paramétrica (Kruskal-Wallis), e quando o nível de significância ( $p < 0,05$ ) da análise foi atingido, aplicaram-se testes de comparações múltiplas (Student-Newman-Keuls ou Dunn's) para localizar as diferenças entre tratamentos.

## Resultados e Discussão

A frequência basal de micronúcleos (figuras 1 e 2), ou seja, aquela observada nos controles negativos, foi de 3,2% em média (tabela 2), a qual foi similar à encontrada para a mesma planta por Batalha et al. (1999) (2,4-2,9%) e Miyazato (1999) (1,7-3,4%). No entanto, houve grandes variações nessa frequência basal ao longo das exposições (valores máximos de 5,3% e mínimos de 1,9%), que podem ser uma resposta a fatores climáticos diferenciados ao longo do período do estudo. Ressalta-se que, em cada exposição, o bioensaio foi realizado concomitantemente nos diferentes locais, usando inflorescências procedentes de uma mesma população de plantas. Sendo assim, qualquer resposta a fatores climáticos pontuais esteve integrada de modo homogêneo na indução de mutações nas células-mãe de grãos de pólen. Porém, em virtude disso, os resultados obtidos em cada local apenas puderam ser comparados estatisticamente dentro de cada bioensaio realizado.

As frequências médias de micronúcleos obtidas em várias das exposições realizadas nos laboratórios testados não diferiram estatisticamente do controle negativo, ficando em alguns casos abaixo dele, ao passo que foram menores do que as frequências observadas no controle positivo (tabela 2). Tais resultados indicam que, na maior parte dos dias avaliados, não se constatou a presença de substâncias mutagênicas no ar desses ambientes em concentração suficiente para causar quebras cromossômicas nas células formadoras de grão de pólen, no momento da sua divisão celular. Mesmo que presentes, a situação



Figuras 1-2. Tétrades de *Tradescantia pallida* “Purpurea”. 1. Conjunto de tétrades. 2. Tétrade com micronúcleos (setas). Ampliado 150×.

Tabela 2. Frequência de micronúcleos em 100 tétrades obtidas nos diferentes locais do Instituto de Botânica. (em cada linha, médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de SNK, a 5% de probabilidade).

Datas de exposição	Controle negativo	Controle positivo	Laboratório de Anatomia	Laboratório de Ficologia	Laboratório de Bioquímica/cromatografia	Laboratório de Bioquímica/eletroforese	Herbário/área da coleção
14/09/99	3,9 <sup>b</sup> ± 0,7	10,0 <sup>a</sup> ± 2,4	3,7 <sup>b</sup> ± 0,5	4,6 <sup>b</sup> ± 0,8	2,9 <sup>c</sup> ± 0,6	5,1 <sup>b</sup> ± 1,7	11,1 <sup>a</sup> ± 2,1
05/10/99	5,3 <sup>b</sup> ± 0,5	11,7 <sup>a</sup> ± 5,6	2,9 <sup>d</sup> ± 0,6	7,6 <sup>a</sup> ± 2,2	3,4 <sup>d</sup> ± 0,7	4,1 <sup>c</sup> ± 0,7	7,7 <sup>a</sup> ± 2,7
09/11/99	2,5 <sup>c</sup> ± 0,4	6,7 <sup>a</sup> ± 0,9	3,6 <sup>b</sup> ± 0,9	2,3 <sup>d</sup> ± 0,6	2,9 <sup>c</sup> ± 0,3	3,8 <sup>b</sup> ± 0,7	7,0 <sup>a</sup> ± 0,7
30/11/99	2,2 <sup>b</sup> ± 0,4	5,7 <sup>a</sup> ± 0,8	2,9 <sup>b</sup> ± 0,6	2,5 <sup>b</sup> ± 0,5	2,7 <sup>b</sup> ± 0,2	2,7 <sup>b</sup> ± 0,5	6,0 <sup>a</sup> ± 0,5
05/01/00	3,6 <sup>b</sup> ± 0,3	7,4 <sup>a</sup> ± 0,7	3,9 <sup>b</sup> ± 0,5	3,7 <sup>b</sup> ± 0,4	3,9 <sup>b</sup> ± 0,5	3,0 <sup>c</sup> ± 0,2	9,5 <sup>a</sup> ± 2,2
02/02/00	3,5 <sup>b</sup> ± 1,4	8,7 <sup>a</sup> ± 0,8	2,7 <sup>b</sup> ± 1,0	2,7 <sup>b</sup> ± 0,4	3,9 <sup>b</sup> ± 0,9	2,8 <sup>b</sup> ± 0,8	7,4 <sup>a</sup> ± 1,4
03/03/00	3,6 <sup>c</sup> ± 0,2	8,5 <sup>a</sup> ± 1,8	4,5 <sup>b</sup> ± 1,3	5,0 <sup>b</sup> ± 1,0	8,4 <sup>a</sup> ± 1,8	4,3 <sup>b</sup> ± 0,7	8,7 <sup>a</sup> ± 1,4
04/04/00	2,4 <sup>d</sup> ± 0,6	3,7 <sup>c</sup> ± 0,6	2,4 <sup>d</sup> ± 0,4	3,3 <sup>c</sup> ± 0,4	4,7 <sup>b</sup> ± 0,7	3,6 <sup>c</sup> ± 0,5	7,3 <sup>a</sup> ± 1,7
25/04/00	1,9 <sup>c</sup> ± 0,4	5,4 <sup>b</sup> ± 2,2	2,5 <sup>d</sup> ± 0,5	1,7 <sup>e</sup> ± 0,2	3,2 <sup>c</sup> ± 0,7	2,3 <sup>d</sup> ± 0,2	6,9 <sup>a</sup> ± 0,4
Média	3,2	7,4	3,2	3,7	4,3	3,5	7,9

de ventilação desses locais foi suficiente para evitar danos genéticos e, conseqüentemente, a formação de micronúcleos nas células-mãe do grão de pólen. Em algumas datas, no entanto, no ambiente *indoor* dos laboratórios de Anatomia (09/11/99, 03/03 e 25/04/00) e de Ficologia (05/10/99, 03/03 e 04/04/00) e das salas de cromatografia e de eletroforese do laboratório de Bioquímica (03/03, 04/04, e 25/04/00) foi detectado um aumento da frequência de micronúcleos em relação ao observado no controle negativo, indicando momentos de maior risco mutagênico aos usuários desses locais. Nos laboratórios de Anatomia e Ficologia, nas datas mencionadas, não foram empregadas substâncias diferentes daquelas normalmente utilizadas, porém na sala de cromatografia do laboratório de Bioquímica, nas datas acima, registrou-se o uso de metanol durante todo o período de exposição das inflorescências, o que não ocorreu nas demais datas, quando o metanol foi usado apenas em parte do período de exposição. Na sala de eletroforese, apenas nessas mesmas datas, foi utilizada a substância antrona, empregada no método colorimétrico para dosagem de açúcar total e formada por ácido sulfúrico e composto fenólico. O emprego de metanol durante todo o período de exposição e da antrona pode explicar o aumento da frequência de micronúcleos nesses locais. Os resultados indicam a necessidade de medidas que visem ao aumento da segurança dos usuários do laboratório quando tais substâncias forem empregadas.

Ao contrário do observado nos laboratórios, na área do herbário, a frequência de micronúcleos foi em média de 7,9%, sendo significativamente superior à frequência obtida no controle negativo e semelhante à

do controle positivo (7,4% em média), em todas as datas de realização do bioensaio. A contaminação ambiental provocada pelos compostos volatilizados do naftaleno e pela ausência de ventilação desse local induziu a formação de micronúcleos na mesma proporção que uma solução de 10 ppm de formaldeído, uma substância reconhecidamente mutagênica. Ma et al. (1984), testando experimentalmente, através do bioensaio Trad-MCN, 140 agentes diferentes, dentre eles o naftaleno, confirmaram o alto poder mutagênico desse produto. Não há dúvidas, portanto, que as pessoas que consultam a coleção de exsiccatas do Herbário do Instituto de Botânica estão expostas a uma situação de risco mutagênico mais intensa do que as que freqüentam os demais laboratórios investigados.

Ma et al. (1984) afirmam que o bioensaio Trad-MCN, onde são empregados diferentes clones de *Tradescantia*, tem se mostrado adequado para uma rápida averiguação de riscos impostos por substâncias mutagênicas aos sistemas biológicos, podendo o agente investigado estar diluído em meio líquido ou apresentar-se na forma gasosa. De fato, no presente estudo, observou-se que essa afirmação também é válida para *T. pallida* "Purpurea", já que os compostos orgânicos gasosos volatilizados a partir do naftaleno, causaram, da mesma maneira que o formaldeído diluído em água, um aumento significativo na ocorrência de mutações nas tétrades polínicas.

O estudo realizado reforça a idéia de Miyazato (1999) de que o bioensaio pode ser utilizado de forma rotineira para monitorar as condições do ar de ambientes fechados submetidos a agentes químicos. Como a planta é muito sensível aos agentes químicos, numa

situação onde ela não é afetada, provavelmente o ambiente está seguro para o homem, já numa situação onde ocorram alterações, refletidas na maior frequência de micronúcleos, deve-se buscar melhorar as condições desse ambiente, uma vez que potencialmente há riscos de provocar efeitos na saúde das pessoas. O bioensaio é especialmente útil para dar esse alerta, destacando-se ainda seu baixo custo, a facilidade de realização do mesmo e a sua aceitação por parte dos usuários dos ambientes testados. Pode, assim, levar a mudanças no comportamento dos frequentadores desses ambientes, através da execução mais cuidadosa de suas atividades, e até auxiliar na tomada de decisão por parte dos dirigentes institucionais, em relação a melhorias nesses ambientes inadequados.

### Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq pela concessão de bolsa de IC a A.N.V. Pedroso.

### Literatura citada

- Batalha, J.R.F., Guimarães, E.T., Lobo, D.J.A., Lichtenfels, A.J.F.C., Deur, T., Carvalho, H.A., Alves, E.S., Domingos, M., Rodrigues, G.S. & Saldiva, P.H.N. 1999. Exploring the clastogenic effects of air pollutants in São Paulo (Brazil) using the *Tradescantia* micronuclei assay. *Mutation Research* 426: 229-232.
- Epstein, E. 1975. Nutrição mineral das plantas. Princípios e perspectivas. Editora da Universidade de São Paulo/Livros técnicos e Científicos Editora S.A., Rio de Janeiro, 341 p.
- Fomin, A. & Hafner, C. 1998. Evaluation of genotoxicity of emissions from municipal waste incinerators with *Tradescantia* micronuclei bioassay (Trad-MCN). *Mutation Research* 414: 139-148.
- Grant, W.F. 1999. Higher plant assays for the detection of chromosomal aberrations and gene mutations—a brief historical background on their use for screening and monitoring environmental chemicals. *Mutation Research* 426: 107-112.
- Guimarães, E.T., Domingos, M., Alves, E.S., Caldini, N., Lobo, D.J.A., Lichtenfels, A.J.F.C., & Saldiva, P.H.N. 2000. Detection of the genotoxic of air pollutants in around the city of São Paulo (Brazil) with the *Tradescantia*-micronucleus (Trad-MCN) assay. *Environmental and Experimental Botany* 44: 1-8.
- Ma, T.H. 1981. *Tradescantia* micronucleus bioassay and pollen tube chromatid aberration test for *in situ* monitoring and mutagen screening. *Environmental Health Perspectives* 37: 85-90.
- Ma, T.H. 1983. *Tradescantia* micronucleus (Trad-MCN) test for environmental clastogens. In: Kolber, Wong, Dewoskin & Hughes (eds.). *In vitro* toxicity testing of environmental agents. Plenum Publishing Cooperation, Macomb, pp. 191-214.
- Ma, T.H., Sparrow, A.H., Schairer, L.A. & Nauman, A.F. 1978. Effect of 1,2 dibromoethane (DBE) on meiotic chromosomes of *Tradescantia*. *Mutation Research* 58: 251-258.
- Ma, T.H., Anderson, V.A., Harris, M.M. & Bare, J.L. 1983. *Tradescantia* micronucleus (Trad-MCN) test on the genotoxicity of Malathion. *Environmental Mutagenesis* 5: 127-137.
- Ma, T.H., Harris, M.M., Anderson, V.A., Ahmed, I., Mohammad, K., Bare, J.L. & Lin, G. 1984. *Tradescantia*-micronucleus (Trad-MCN) tests on 140 health-related agents. *Mutation Research* 138: 157-167.
- Ma, T.H., Xu, C., Liao, S., McConnell, H., Jeong, B.S. & Won, C. D. 1996. *In situ* monitoring with the *Tradescantia* bioassays on the genotoxicity of gaseous emissions from a closed landfill site and incinerator. *Mutation Research* 359: 39-52.
- Miyazato, C.A. 1999. Avaliação *in loco* do potencial clastogênico do ambiente de trabalho em um laboratório clínico, através do bioensaio de micronúcleo em *Tradescantia pallida*. Tese de Doutorado, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, 80 p.
- Mohammed, K.B. & Ma, T.H. 1999. *Tradescantia* micronucleus and stamen hair mutation assays on genotoxicity of the gaseous and liquid forms of pesticides. *Mutation Research* 426: 193-199.
- Monarca, S., Feretti, D., Zanardini, A., Moretti, M., Villarini, M., Spiegelhalter, B., Zerbini, I., Gelatti, U. & Lebbolo, E. 2001. Monitoring airborne genotoxicants in the rubber industry using genotoxicity tests and chemical analyses. *Mutation Research* 490: 159-169.
- Rodrigues, G.S., Madkours, S.A. & Weinstein, L.H. 1996a. Genotoxic activity of ozone in *Tradescantia*. *Environmental and Experimental Botany* 36: 45-50.
- Rodrigues, G.S., Ma, T.H., Pimentel, D. & Weinstein, L.H. 1996b. *Tradescantia* bioassays as monitoring systems for environmental mutagenesis. A review. *Critical Reviews in Plant Sciences* 16: 325-359.
- Roth, I. 1964. *Microtecnica Vegetal*. Imprensa Universitaria, Caracas, 88 p.
- Steinitz, L.M. 1944. The effect of lack of oxygen on meiosis in *Tradescantia*. *American Journal of Botany* 31: 428-443.
- Suyama, F., Guimarães, E.T., Lobo, D.J.A., Rodrigues, G.S., Domingos, M., Alves, E.S., Carvalho, H.A. & Saldiva, P.H.N. 2002. Pollen mother cells of *Tradescantia* clone 4430 and *Tradescantia pallida* cv. *purpurea* are equally sensitive to the clastogenic effects of X-rays. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 35: 127-129.
- Xu, Z. & Ma, T.H. 1998. Clastogenicity of formaldehyde fumes and X-rays evaluated by the *Tradescantia*-micronucleus assay. *Environmental and Experimental Botany* 39: 169-175.