

ALESSANDRA CARLA FATTORI ERGESSE MACHADO

Avaliação da viabilidade de utilização de
***Tradescantia pallida* cv. Purpurea no**
biomonitoramento de fontes estacionárias de
contaminação atmosférica

Tese apresentada ao Instituto de Botânica da
Secretaria do Meio Ambiente, como parte dos
requisitos exigidos para a obtenção do título de
DOUTOR em BIODIVERSIDADE
VEGETAL E MEIO AMBIENTE, na Área de
Concentração de Plantas Vasculares em
Análises Ambientais.

SÃO PAULO

2008

ALESSANDRA CARLA FATTORI ERGESSE MACHADO

Avaliação da viabilidade de utilização de
***Tradescantia pallida* cv. Purpurea no**
biomonitoramento de fontes estacionárias de
contaminação atmosférica

Tese apresentada ao Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente, como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de DOUTOR em BIODIVERSIDADE VEGETAL E MEIO AMBIENTE, na Área de Concentração de Plantas Vasculares em Análises Ambientais.

ORIENTADORA: DRA. EDENISE SEGALA ALVES

Ficha Catalográfica elaborada pela Seção de Biblioteca do Instituto de Botânica

Machado, Alessandra Carla Fattori Ergesse

M149a Avaliação da viabilidade de utilização de *Tradescantia pallida* cv. Purpurea no biomonitoramento de fontes estacionárias de contaminação atmosférica / Alessandra Carla Fattori Ergesse Machado -- São Paulo, 2008.
095 p.il.

Tese (Doutorado) -- Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, 2008

Bibliografia.

1. Commelinaceae. 2. Trad-MCN . 3. Bioindicador . I. Título

CDU : 582.565.2

*Dedico este trabalho ao meu marido Marcelo, e à
minha filha Ana Clara, os maiores presentes de Deus.*

“...porque o Senhor é quem dá a sabedoria, e da sua boca é que procedem a ciência e a prudência.”

Provérbios 2, 6

AGRADECIMENTOS

À Dra. Edenise Segala Alves, minha orientadora, pela amizade, motivação, dedicação e conhecimento com que me conduziu ao longo desse trabalho. Foi muita compreensiva e amiga em momentos muito difíceis da minha vida.

Ao amigo e companheiro de trabalho Cristians Edgar Guimarães Leite, competente e engenhoso tecnólogo e biólogo do Laboratório Radioecológico, por ter desenvolvido e construído os sistemas controlados para as exposições experimentais.

À minha encarregada de Divisão, a bióloga Dra. Rosane Correa Fagundes Silva, por ter sempre me incentivado e apoiado na realização desse trabalho.

Ao meu chefe de Departamento, Dr. José Messias de Oliveira Neto, por todo apoio prestado.

Ao Centro Tecnológico da Marinha em São Paulo, na pessoa do Exmo. Diretor Contra-Almirante, (EM) Carlos Passos Bezerril e do Superintendente da Qualidade, Marco Antonio Calixto Pádua, pela autorização e viabilização da realização deste trabalho.

A todos os colegas de trabalho do Laboratório Radioecológico, que de alguma maneira colaboraram para a realização deste trabalho, com críticas e sugestões sempre construtivas. Em especial ao químico Marcelo Sartoratto, por toda a contribuição para a realização dos experimentos laboratoriais; ao químico Djair Robles Arine, pelas revisões dos textos em inglês e pelas sugestões sempre bem-vindas; à técnica química e grande amiga, Bárbara Eliodora Leite Sartoratto, pela contribuição na preparação da aula de qualificação e ao técnico

Renato Francisco Pereira, pela disposição e interesse em ajudar, sempre dando sugestões muito pertinentes.

Ao colega de trabalho e grande amigo, Osmar Antonio Hartkoff, pelo companheirismo e amizade, principalmente nos momentos mais difíceis.

À estagiária Juliana Kawasaki, pela dedicação e pelo auxílio na contagem de micronúcleos.

Ao colega Rodemir de Oliveira, pelas instruções sobre radioproteção.

À estatística Monique Moura Barroso Ramos, pelos ensinamentos e orientações a respeito das análises estatísticas utilizadas. Além disso, foi sempre prestativa e atenciosa.

À amiga, bióloga Sandra Mattiolo, pela amizade e companheirismo.

Ao funcionário João Tavares Fusco da seção de Mock-up, pela disponibilidade e prontidão para confeccionar as peças em acrílico que compuseram os sistemas de exposição em laboratório.

À Comissão de Pós-Graduação do Instituto de Botânica, pela oportunidade que me foi dada.

À bióloga Mestre Andrea Nunes Vaz Pedroso, da Seção de Anatomia, por ter me treinado para a realização do bioensaio Trad-MCN, por todo conhecimento que me transmitiu, mas, sobretudo, pelo companheirismo, atenção e amizade de sempre.

À Dra. Silvia Ribeiro de Souza, pelas sugestões e orientações sobre os experimentos laboratoriais.

À Dra. Marisa Domingos, pela disponibilidade em responder as inúmeras perguntas feitas ao longo do curso, sendo sempre muito atenciosa e paciente.

À Dra. Eliane Tigre Guimarães Sant'Anna, pela disponibilidade em compartilhar seus conhecimentos e por ter emprestado a bomba infusora, utilizada nos experimentos laboratoriais.

À Dra. Mitiko Saiki, pesquisadora do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN), pela realização das análises para determinação de urânio.

À Sra. Maria Helena S.C.F. Gallo, bibliotecária do IBt, pela elaboração da ficha catalográfica.

ÍNDICE

Introdução geral	1
Justificativas	9
Objetivos gerais	11
Capítulo 1	
Avaliação da genotoxicidade de efluentes líquidos de lavadores de gases, dos gases amônia e ácido fluorídrico e da radiação ionizante, por meio do bioensaio Trad-MCN	12
Capítulo 2	
Biomonitoramento <i>in situ</i> de fontes estacionárias de contaminação atmosférica por meio do bioensaio Trad-MCN com <i>Tradescantia pallida</i> e da análise de acúmulo foliar de flúor e urânio	51
Discussão geral	80
Conclusão geral	83
Bibliografia	85
Resumo geral	94
General abstract	95

INTRODUÇÃO GERAL

Utilização de organismos vivos para estudar a toxicidade atmosférica

Desde o século XIX, com o desenvolvimento industrial e urbano e o conseqüente aumento das emissões provenientes das atividades industriais e emissões veiculares, têm sido observados efeitos da poluição atmosférica sobre os seres vivos. Assim, desde o início do século XX, têm sido realizadas várias pesquisas que englobam estudos do efeito da poluição sobre as plantas (Chies 1983). Algumas características observadas em tais pesquisas são: efeitos genotóxicos, observação de queda de folhas, análise de pigmentos associados ao aparelho fotossintético, deposição e acúmulo de elementos químicos nas folhas, alterações estruturais e ultra-estruturais e efeitos nos órgãos reprodutivos.

A necessidade da comunidade científica de entender quais são os agentes ambientais causadores de danos genéticos no ser humano também vem desde o início do século passado e, junto a essa preocupação, começaram a se aprimorar os estudos acerca dos processos que causariam mutações em células. Para atender a esses desafios, começaram, então, a ser desenvolvidos vários bioensaios toxicogenéticos, desde os mais simples aos mais sofisticados (Ribeiro *et al.* 2003).

Bioensaios de toxicidade genética e o Trad-MCN

Uma mutação é definida como uma mudança na seqüência do DNA, que leva a uma alteração herdável da função gênica. Os agentes que mudam a seqüência do DNA (mutagênicos) são “tóxicos” para o gene e são, então, chamados de “genotóxicos” (Ribeiro *et al.* 2003).

Para avaliar e prevenir a presença de agentes genotóxicos no ambiente é necessário utilizar indicadores sensíveis que permitam detectar a ação desses compostos. Existem plantas que são consideradas ideais para o estudo de mutagênese, tanto em laboratório quanto em monitoramento *in situ*, atuando assim como “bioindicadoras”. Dentre os testes com as plantas bioindicadoras, o teste dos micronúcleos com *Tradescantia* spp. (Trad-MCN) é considerado o mais sensível para agentes genotóxicos (Ennever *et al.* 1988, Rodrigues *et al.* 1997, Saldiva *et al.* 2002). O gênero *Tradescantia* tem sido utilizado experimentalmente desde os primeiros estudos que relacionaram a atividade genética com a ação de compostos e agentes químicos. A escolha se deve a uma série de características genéticas favoráveis, dentre as quais se destaca o fato de que as células de quase todas as partes da planta fornecem excelente material para estudos citogenéticos (Ma & Grant 1982).

A influência de agentes químicos e físicos (em especial a radiação) sobre a frequência de mutações tem sido amplamente estudada mediante análise de alterações observadas em *Tradescantia* (Carvalho 2005). Entre as características que permitem a detecção de agentes que afetam a estabilidade do genoma em *Tradescantia*, foram selecionadas algumas como indicadoras em bioensaios de avaliação de toxicidade genética: ensaio de mitose no tubo polínico e mutação para célula cor-de-rosa em pêlo estaminal (Trad-SH) (Rodrigues & Campos 2006). A avaliação da genotoxicidade em *Tradescantia* também pode ser feita pela detecção fragmentos ou segmentos de DNA induzidos por agentes genotóxicos presentes no ar, no solo e na água (Carvalho 2005), para tal foi desenvolvido um teste citogenético que se baseia na formação de micronúcleos (Trad-MCN). Assim, o ensaio Trad-MCN é baseado na formação de micronúcleos, que são como resultado da fragmentação cromossômica, visualizada na fase tétrade de células-mãe de grãos de (Ma *et al.* 1982, Rodrigues *et al.* 1995). Os micronúcleos são contados e a frequência em que ocorrem indicará a toxicidade do ambiente.

O teste de micronúcleo em *Tradescantia* (Trad-MCN) vem há muito sendo empregado no monitoramento ambiental, o que se deve à sua efetividade na detecção de danos cromossômicos, à simplicidade com que é executado e ao seu baixo custo financeiro de sua metodologia. Todas estas propriedades o credenciam como excelente ferramenta para esse tipo de monitoramento (Zeng *et al.* 1999). Além disso, os estudos realizados ao longo dos anos sobre a genética e o desenvolvimento de *Tradescantia* oferecem um sólido suporte para seu uso como bioindicador para ensaios de toxicidade genética ambiental (Ma & Grant 1982). Micronúcleos nas células-mães de grãos de pólen são facilmente observáveis e os ensaios com *Tradescantia* têm se mostrado valiosos nos estudos de agentes genotóxicos (Rodrigues *et al.* 1997).

Os pesquisadores do Programa Internacional de Bioensaios com Plantas, da Universidade de Illinois (EUA), foram os que primeiro desenvolveram e utilizaram o bioensaio de micronúcleos (Trad-MCN) em tétrades para avaliação da genotoxicidade de certos agentes. A planta utilizada foi um clone híbrido 4430 (*T. hirsutiflora* Bush x *T. subacaulis* Bush), num estudo comparativo com os ensaios de mutações dos pêlos estaminais (Trad-SH), para avaliação dos efeitos do 1,2-dibromoetano, substância conhecida mutagênica, sobre os cromossomos das células em meiose (Ma *et al.* 1979). A base para o desenvolvimento desse ensaio foi o fato de que o maior problema na avaliação quantitativa das fragmentações cromossômicas estava na perda dos cromossomos em metáfase e sua imagem aparecia borrada nas preparações das células em meiose. Entretanto, se o agente é aplicado no início da Prófase I e o cromossomo prossegue por um período de recuperação, os fragmentos acêntricos dos cromossomos se transformam em micronúcleos, na fase de tétrade da meiose, facilmente identificados em microscopia ótica (Carvalho 2005).

O emprego do ensaio Trad-MCN para o monitoramento de agentes genotóxicos ambientais foi proposto após estudos envolvendo agentes pró-mutagênicos (benzo- α -pireno) em localidades

poluídas (Ma 1979, 1981). Em 1983, T.H. Ma estabeleceu o protocolo para a realização do bioensaio Trad-MCN (Ma 1983).

Numa revisão de trabalhos sobre monitoramento *in situ* Ma (1990) revelou que, até 1990, foram realizados cerca de 300 testes com o ensaio Trad-MCN, numa grande variedade de situações: poluição do ar, poluição aquática, contaminantes e acondicionantes do solo, pesticidas, agentes químicos, estresses fisiológicos e radiações. Atualmente, esses testes continuam sendo aplicados para estudos de diferentes situações ambientais, em vários países.

Em Ilhinois (EUA), espécies de *Tradescantia* foram expostas em vários locais poluídos, como também foram fumigadas com os gases comumente encontrados em atmosferas poluídas. As exposições das plantas em estacionamentos, áreas industriais e laboratórios revelaram um aumento na frequência de micronúcleos. Já as plantas expostas em ambientes não submetidos a agentes tóxicos, não apresentaram tal aumento. Quando fumigadas com poluentes atmosféricos como SO₂ e NO₂, além de ácido hidrazóico gasoso (HN₃), as plantas também indicaram serem estes gases os possíveis agentes genotóxicos da atmosfera (Ma & Grant 1982).

No México, também foi avaliada a frequência de micronúcleos em *Tradescantia* spp. exposta em uma área altamente industrializada, uma área residencial e uma de ocupação mista (Ruiz *et al.* 1992). Plantas expostas na área industrial apresentaram maiores frequências de micronúcleos do que as plantas controle ao longo de todo ano, enquanto plantas expostas em áreas residenciais apresentaram incrementos na frequência de micronúcleos somente em meses específicos. Isto indica que a planta utilizada é sensível aos agentes genotóxicos presentes na área industrial.

Por meio de vários estudos realizados ao longo dos anos, *Tradescantia* também tem demonstrado sensibilidade aos efeitos danosos dos raios-X, fontes radioisotópicas internas, externas e raios cósmicos. Com a passagem da radiação nas células, ou em parte delas, ocorre a liberação de

energia, que pode resultar em ionização e excitação dos átomos e na quebra de moléculas e, como consequência, a formação de íons e radicais livres altamente reativos. Estes, por sua vez, podem atacar o DNA, resultando na sua fragmentação ou destruição (Okuno *et al.* 1986).

O bioensaio Trad-MCN com o clone 4430 também foi utilizado, juntamente com amostragem passiva por membranas (SPMDs) e outros ensaios, para avaliar a toxicidade da atmosfera urbana e na região Sul da Itália (Isidori *et al.* 2003). Na Slovakia clones de *Tradescantia* foram utilizados para avaliar os efeitos genotóxicos de poluentes em uma área vizinha à cidade de Zilina, verificando-se diferença significativa na frequência de micronúcleos das plantas expostas no local, quando comparadas ao grupo controle (Solenská *et al.* 2006).

O clone 4430 também foi submetido a gases provenientes de incineradores em exposições *in situ* (Ma *et al.* 1996) e exposições em sistema de fumigação com tais gases (Fomin & Hafner 1998), verificando-se, em ambas as situações, a alta frequência de micronúcleos e o potencial clastogênico dos gases testados.

Na Universidade de Sains Malaysia, em Penang (Malásia), os bioensaios Trad-MCN e Trad-SH, com os clones 4430 e 03 de *Tradescantia*, foram utilizados para avaliar a genotoxicidade de formas líquidas e gasosas de pesticidas. Para tal estudo foram utilizados dois diferentes métodos de exposição das plantas: fumigação (tratamento com gases) e absorção (tratamento com soluções aquosas). Os resultados dos testes Trad-MCN foram positivos para ambos os tratamentos (Mohammed & Ma 1999).

Wang & Wang 1999, da Universidade de Lanzhou na China, também utilizaram Trad-MCN para demonstrar o potencial genotóxico da radiação UV-B.

O Trad-MCN com o clone 4430 também foi realizado para estudar a fitogenotoxicidade das substâncias 2,4- e 2,6-dinitrotolueno, intermediários na produção de toluenos, explosivos,

propelentes, entre outros. Os testes demonstraram genotoxicidade positiva dessas duas substâncias, porém uma maior genotoxicidade do 2,4-DNT, em relação ao 2,6-DNT (Gong *et al.* 2003).

Na Universidade de Metz-Bridoux, na França, estudos com *Tradescantia* 4430 exposta ao ^{137}Cs , indicaram genotoxicidade à baixas doses de radiação gama e beta emitida por esse radionuclídeo (Minouflet *et al.* 2005).

Numa revisão publicada por Grant (1998) sobre a ação de substâncias mutagênicas em ambientes internos e externos, o autor afirma que *Tradescantia* é uma planta ideal para monitoramento e testes de poluição do ar. Além disso, os resultados dos bioensaios Trad-MCN e Trad-SH mostram que esses ensaios são igualmente sensíveis a ensaios tanto *in vitro*, quanto *in situ*, realizados com animais.

Klumpp *et al.* (2004), empregando o Trad-MCN e o clone 4430, investigaram a influência de fatores ambientais, tais como: umidade relativa do ar e temperatura, sobre taxas de micronúcleos espontâneas ou induzidas por poluentes, durante diferentes períodos de exposição e recuperação. Os resultados desse estudo apontaram para a possibilidade de ocorrer a influência de fatores climáticos, sobretudo a temperatura, sobre os resultados do Trad-MCN.

No Brasil, os primeiros estudos empregando o Trad-MCN utilizaram o clone híbrido 4430 (*T. hisutiflora* Bush x *T. subcaulis* Bush) (Rodrigues 1999a), especialmente para a detecção do potencial tóxico de pesticidas. Posteriormente, devido a vários fatores que impediram o sucesso de experimentos quando os clones foram expostos em ambientes externos, uma vez que os clones são muito sensíveis, Batalha *et al.* (1999) propuseram o uso de *Tradescantia pallida* (Rose) Hunt. cv. Purpurea Boom em testes de micronúcleo. Esta espécie, também conhecida como coração-roxo ou trapoeraba-roxa, proveniente do México e bastante presente em ruas e jardins das cidades do Brasil, onde é usada como planta ornamental por ser bem adaptada às condições ambientais do país (Lorenzi & Souza 2001). *T. pallida* floresce o ano todo e também exhibe notável resistência a

parasitas e insetos, se propaga rapidamente, facilitando o preparo de vasos, que são facilmente transportados aos locais de exposição (Carvalho 2005).

Trabalhos pioneiros com essa espécie, para detecção da genotoxicidade da poluição urbana, com vistas à saúde pública e a qualificação de ambientes de trabalho, foram realizados na cidade de São Paulo pelo grupo do Laboratório de Poluição Ambiental da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo em parceria com grupo de pesquisadores do Instituto de Botânica (Batalha *et al.* 1999, Miyazato 1999, Guimarães *et al.* 2000, Suyama *et al.* 2002, Alves *et al.* 2003). Desde então, vários estudos empregando *T. pallida* para o bioensaio Trad-MCN, têm sido realizados no Brasil.

Suyama *et al.* (2002) analisaram comparativamente a sensibilidade do clone 4430 e de *T. pallida* aos efeitos mutagênicos de raio-X e concluíram que essa espécie é tão eficiente na detecção de agentes genotóxicos presentes no ambiente quanto os clones de *Tradescantia*, representando uma boa alternativa para testes *in situ* de mutagênese em regiões tropicais.

Utilizando *T. pallida* Santos (2004) verificou a baixa genotoxicidade de resíduos catalíticos industriais. Um estudo sobre a mutagenicidade de material particulado proveniente de fontes móveis na cidade de São Paulo, utilizando bioensaio Trad-MCN com *Tradescantia pallida*, demonstrou que esse bioindicador é sensível aos poluentes considerados (Carvalho-Oliveira *et al.* 2005). Essa espécie também foi utilizada para monitorar e avaliar as condições atmosféricas da cidade de Santo André, proposta de tema para educação ambiental, sendo considerada uma bioindicadora muito apropriada para estudos que envolvam a educação ambiental devido à sua facilidade de cultivo (Luiz *et al.* 2005).

Silva (2005), durante um ano, coletou mensalmente inflorescências de *T. pallida*, em quatro locais do município de Salvador/BA, para avaliar a qualidade do ar desta cidade, verificando com esse estudo a indução de danos genéticos pelos poluentes ocorrentes nos locais de amostragem.

Plantas de *Tradescantia pallida* também foram expostas na cidade de Santo André-SP para verificar a viabilidade do Trad-MCN na determinação do potencial clastogênico da poluição do ar nesse município; a planta foi também analisada quanto ao seu potencial acumulador ou marcador para mapeamento de fontes emissoras de poluentes contendo metais e outros compostos tóxicos. O bioensaio indicou forte risco clastogênico em áreas com maior emissão veicular. Entretanto, as frequências de micronúcleos observadas não foram preditas somente por poluentes atmosféricos da região. Nesse estudo foi verificado que condições climáticas extremas, principalmente temperatura, contribuíram para o aumento da formação de micronúcleos. A análise foliar identificou evidente potencial acumulador de elementos importantes para o biomonitoramento da qualidade do ar (Savóia 2007).

Lima (2007) utilizou *T. pallida* para avaliar a sua capacidade para o biomonitoramento do potencial genotóxico de ozônio. Durante o período de estudo, foi verificada baixa frequência de micronúcleos, porém também se observou a influência da temperatura ambiente na formação dos mesmos.

Tradescantia pallida também foi utilizada em ensaio de micronúcleo para determinar respostas clastogênicas ao naftaleno (NAPH) e para verificar se o bioensaio pode ser um indicador de riscos potenciais de locais de trabalho, onde inseticidas com essa substância são usualmente aplicados. Nesse estudo foi observado aumento de frequência de micronúcleos nas inflorescências submetidas às crescentes concentrações de formas sólidas e líquidas de naftaleno, evidenciando a clastogenicidade dessa substância (Alves *et al.* 2007).

Assim, em geral, o bioensaio Trad-MCN é considerado adequado para a avaliação de contaminação atmosférica, seja de áreas pesadamente poluídas, industriais ou urbanas, ou sob condições normais de ambientes residenciais (Rodrigues 1999). No entanto devem ser considerados

os fatores ambientais que também induzem a formação de micronúcleos, podendo interferir nos resultados.

JUSTIFICATIVAS

O Cento Experimental Aramar (CEA) / Centro Tecnológico da Marinha em São Paulo é uma organização militar localizada no município de Iperó-SP, onde são desenvolvidas tecnologias para enriquecimento de urânio. O ciclo do combustível nuclear é dividido em basicamente oito etapas: mineração, beneficiamento (yellow-cake), conversão do yellow-cake em hexafluoreto de urânio (UF_6), enriquecimento do urânio-235, reconversão do gás hexafluoreto de urânio (UF_6) em dióxido de urânio (UO_2) no estado sólido, fabricação de pastilhas de UO_2 , fabricação de elementos combustíveis e armazenamento e disposição permanente dos resíduos. Além do desenvolvimento da tecnologia para enriquecimento do urânio, no CEA são executadas algumas dessas fases do ciclo do combustível nuclear, porém ainda em escala piloto.

Neste trabalho foram consideradas emissões provenientes de fontes estacionárias presentes na área de estudo. Tais fontes são: (a) lavadores de gases e (b) radiação ionizante.

- (a) Lavadores de gases (LG): são os equipamentos utilizados no CEA para o controle das emissões gasosas dos laboratórios onde ocorrem algumas fases do ciclo do combustível nuclear. Também são chamados de coletores úmidos e o princípio de funcionamento consiste em lavar o gás através de uma aspensão de gotas (de uma solução neutralizadora), que colidem com o material particulado, aglomerando as partículas e tornando a coleta facilitada (UFES, 2007). Os gases críticos considerados nas fontes localizadas no CEA são ácido fluorídrico (HF) e amônia (NH_3).

- (b) Radiação ionizante: como a consequência das principais atividades do CEA pode ocorrer emissão de radiação ionizante. O material radioativo utilizado nesse estudo foi um minério de urânio de baixa atividade específica.

No CEA está em vigor um Plano de Monitoramento Ambiental (PMA), que visa assegurar a preservação do meio ambiente onde o mesmo está localizado. O Laboratório Radioecológico (LARE) é responsável pelo monitoramento e nele são analisadas periodicamente as vias potenciais de contaminação do homem: água, alimentos, solo e ar.

O bioensaio Trad-MCN utilizando *Tradescantia pallida* proposto neste trabalho foi escolhido para qualificar ambientes externos por meio de análise da toxicidade genética de potenciais fontes de contaminação atmosférica: radiação ionizante e emissões atmosféricas provenientes de lavadores de gases do CEA.

A escolha do Trad-MCN se deu não somente devido à sua versatilidade como, também, à sua sensibilidade (Ma *et al.* 1982), exibindo uma eficiência aproximadamente 36 vezes maior quando comparado às mutações em pêlos estaminais - ensaio também realizado com espécies de *Tradescantia* (Ma 1979). Além disso, a utilização de plantas, como bioindicadoras de poluição, em comparação com células animais, oferece algumas vantagens como: o baixo custo do cultivo, a fácil visualização de seus cromossomos durante a divisão meiótica e o fato de que para a avaliação dos micronúcleos não são necessários instrumentos sofisticados (Rodrigues *et al.* 1998).

O trabalho foi desenvolvido em duas etapas: exposições experimentais da planta em sistemas controlados e exposições *in situ*. Os resultados são apresentados em dois capítulos distintos.

OBJETIVOS GERAIS

O estudo proposto objetiva testar a hipótese de que a planta biondicadora *Tradescantia pallida* cv. Purpurea pode ser empregada no biomonitoramento das fontes potenciais de contaminação atmosférica do Centro Experimental Aramar / Centro Tecnológico da Marinha em São Paulo (CTMSP).

Pretende-se responder às seguintes questões:

- As fontes de contaminação atmosférica do CEA apresentam genotoxicidade detectável por meio do Trad-MCN?
- Existem diferenças no grau de genotoxicidade quando se comparam os diferentes agentes contaminantes?
- O modelo experimental proposto poderá ser utilizado de forma rotineira em programa de biomonitoramento no local de estudo?

Para responder às questões propostas, o trabalho foi dividido em duas etapas, que serão abordadas em capítulos distintos: ensaios em laboratório, com exposições aos agentes potencialmente emitidos pelas fontes consideradas (efluentes líquidos dos lavadores de gases, amônia, ácido fluorídrico e radiação ionizante gama) e exposição *in situ*, empregando-se canteiros e floreiras estabelecidos no campo.

Capítulo 1

Avaliação da genotoxicidade de agentes de contaminação atmosférica, por meio do bioensaio

Trad-MCN

RESUMO - Ensaio biológico têm sido bastante empregados para avaliar agentes genotóxicos presentes no ambiente e, entre os bioensaios com plantas, o Trad-MCN tem sido extensivamente usado. Esse trabalho foi desenvolvido no Centro Experimental Aramar (CEA), onde são desenvolvidas as tecnologias para enriquecimento de urânio, com o objetivo de testar a genotoxicidade de agentes presentes nesse local. Os agentes testados, em sistemas especialmente projetados para tal, foram os efluentes líquidos provenientes de lavadores de gases, os gases amônia e ácido fluorídrico, bem como a radiação ionizante, considerados representativos das atividades desenvolvidas no local. Inflorescências de *Tradescantia pallida* (Rose) cv. Purpurea foram empregadas no bioensaio de acordo com o protocolo já estabelecido para clones híbridos de *Tradescantia*. Os resultados obtidos indicaram que, em condições controladas de laboratório, *T. pallida* é uma planta bioindicadora sensível aos gases amônia e ácido fluorídrico e radiação ionizante gama testados, uma vez que foi observado aumento na frequência de micronúcleos quando as inflorescências foram submetidas a essas substâncias em comparação com o controle negativo. Já os ensaios com efluentes líquidos dos lavadores de gases, indicaram baixo potencial genotóxico desse material. Não se observou variação significativa entre a frequência de micronúcleos e o controle negativo. Isso talvez se deva ao fato de que as unidades industriais em que os lavadores de gases operam estão funcionando apenas em escala piloto, gerando pequena quantidade de efluentes gasosos.

Palavras-chave: bioindicador, micronúcleos, sistemas de exposição, *Tradescantia pallida*

ABSTRACT – Biological assays have been employed to evaluate genotoxic agents in the atmosphere. Among the bioassays using plants, the Trad-MCN has been extensively used. This study was developed at the Experimental Center Aramar (CEA), where is developed the technologies for isotopic enrichment of uranium. The agents tested were liquid effluents from gas washing, gaseous ammonia and hydrogen fluoride, as well as the ionizing radiation, considered representative of the activities developed in this place. Inflorescences of *Tradescantia pallida* (Rose) cv. Purpurea were used in this experiment to evaluate the genotoxic potential of the important agents in the study area. The bioassay was accomplished according to the usual protocol. The obtained results indicated that the experiment was valid and that *T. pallida* is a sensitive bioindicator for the tested gaseous ammonia and hydrogen fluoride and ionizing radiation. Comparing with (to?) the negative control, we observed a higher micronucleous frequency in inflorescences exposed to those substances. However the assays with liquid effluents from gas washing indicated low genotoxic potential of that material. No variation was observed in the micronucleous frequency in relation to the negative control. It can be explain, because the industrial units in that the gas washing operate they are just working in pilot scale, generating small amount of gaseous effluents.

Key words: bioindicator, exposure system, micronucleus, *Tradescantia pallida*

Introdução

Ensaio biológicos com plantas ou outros organismos têm sido amplamente aplicados para monitorar agentes genotóxicos no ambiente, sejam eles contaminantes líquidos ou emissões gasosas. Dentre eles destaca-se o Trad-MCN desenvolvido com diferentes espécies e clones de *Tradescantia* (Ma 1983), que consiste na contagem de micronúcleos em células-mãe de grãos de

pólen. Esses micronúcleos são pequenos fragmentos, resultantes de clastogênese ou anuegênese, induzidas por agentes genotóxicos. Os micronúcleos formados no início da meiose (prófase I) são visualizados na fase de tétrades (Savóia 2007).

Vários estudos têm demonstrado que o Trad-MCN é uma ferramenta útil para a identificação da genotoxicidade de emissões atmosféricas (Ma 1982, Sandhu *et al.* 1989), uma vez que a planta pode ser exposta *in situ* ou diretamente aos contaminantes estudados em situação de laboratório. Os vários trabalhos realizados com a *Tradescantia* spp. oferecem uma sólida estrutura de suporte para seu uso como bioindicador em ensaios de toxicidade (Ma & Grant 1982). *Tradescantia paludosa* já foi utilizada em estudos sobre os efeitos potenciais de fatores associados a vôo espacial, como a aceleração, vibração, falta de gravidade, etc. Porém, as aberrações cromossômicas observadas não estavam associadas com a duração do vôo ou com o lançamento e aterragem da nave, então, especulou-se que o agente causador dessas aberrações seria o pesado bombardeio por radiações cósmicas (Delone *et al.* 1986). O clone 4430 de *Tradescantia* também foi empregado com sucesso no bioensaio Trad-SH para a avaliação da genotoxicidade de radiação emitida pelo ^{137}Cs (Minouflet *et al.* 2005). Estudos sobre os efeitos da radiação ionizante em *Tradescantia* mostram que a mesma é altamente sensível, sendo, assim, viável a sua utilização para estes fins.

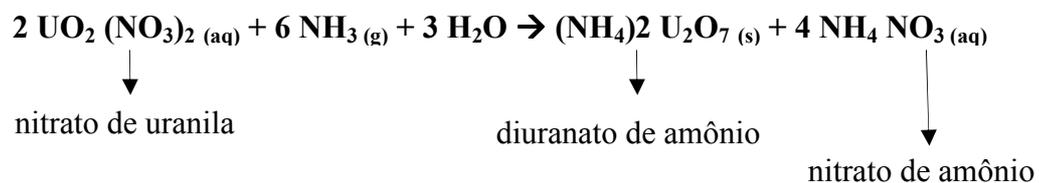
No Brasil, alguns trabalhos têm mostrado a aplicabilidade do bioensaio Trad-MCN, com *Tradescantia pallida*, na avaliação de ambientes contaminados por poluentes urbanos (Guimarães 2003, Luiz *et al.* 2005, Silva 2005, Savóia 2007), poluentes industriais (Santos 2004), naftaleno (Alves *et al.* 2003, Alves *et al.* 2007), raio-X (Batalha *et al.* 1999, Suyama *et al.* 2002) e os resultados têm apontado para a possibilidade de aplicação do bioensaio para detecção da genotoxicidade de outras substâncias, o que se pretende com o presente trabalho.

No Centro Tecnológico da Marinha em São Paulo / Centro Experimental Aramar (CEA), os sistemas usados para tratar as emissões gasosas provenientes dos laboratórios de enriquecimento de

urânio são chamados de lavadores de gases, os gases críticos resultantes do processo são fluoretos (F⁻), ácido fluorídrico (HF) e amônia (NH₃). Nesse sistema, uma solução aquosa, que pode ser ácida ou básica, dependendo dos gases a serem tratados, é empregada para se obter ou facilitar o abatimento de aerodispersóides. Essa solução recircula dentro do sistema enquanto estiver em condições de neutralizar os gases. Após o que é tratada para ser lançada ao corpo receptor (rio).

Os lavadores de gases em operação nas instalações do CEA foram dimensionados com base no fator de eficiência do HF, pelo fato deste apresentar o menor coeficiente de absorção e ser considerada a substância crítica de dimensionamento. Os lavadores de gases do Laboratório de Enriquecimento Isotópico (LEI) e da Usina de Demonstração Industrial de Enriquecimento (USIDE) têm apresentado uma eficiência mínima de 95 % para o HF ocasionalmente liberado em um evento, sendo superior para os demais gases e particulados presentes nos efluentes gasosos das instalações (CTMSP 1997). Para o lavador de gases do Laboratório de Materiais Nucleares (LABMAT), é considerada eficiência de 99 %. A análise da solução circulante dos lavadores de gases é feita periodicamente nas instalações, visando controlar a eficiência destes lavadores. Caso essa eficiência abaixe por alguma falha no equipamento, a utilização de uma planta bioindicadora poderá constatar imediatamente a ocorrência e permitir que o problema seja solucionado mais rapidamente, sem causar grandes danos para o ambiente ou para os seres humanos.

A amônia é um insumo utilizado na fase de precipitação de diuranato de amônio para a obtenção do UF₆, como pode ser observado na reação química apresentada a seguir:



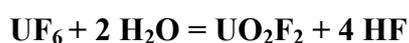
Estudos em laboratório com plantas mostraram que a amônia pode provocar um colapso agudo dos tecidos foliares, com ou sem subsequente perda da clorofila (CETESB 2008). Apesar do gás amônia (NH₃) ser, provavelmente, o mais importante gás neutralizador de aerossol ácido, poucos estudos têm avaliado a sua concentração atmosférica (Brena 2002). Este gás é um poluente atmosférico com efeitos desastrosos sobre a saúde humana e sobre os ecossistemas. Por ser muito solúvel em água, irrita o tecido conjuntivo dos olhos e das vias respiratórias superiores (Fellenberg 1980).

O flúor, como afirma Chaves *et al.* (2002), se apresenta na atmosfera principalmente na forma de ácido fluorídrico e é considerado o poluente de maior fitotoxicidade, causando injúrias em espécies suscetíveis em concentrações atmosféricas na ordem de 10 a 1000 vezes menores (menos que 1 mg L⁻¹) que outros poluentes, como por exemplo, o ozônio.

O ácido fluorídrico participa do processo de enriquecimento em duas etapas:

(a) como insumo para a obtenção do hexafluoreto de urânio (UF₆), que é a forma gasosa utilizada para o enriquecimento do urânio;

(b) como resultado da hidrólise do hexafluoreto de urânio, que pode ser exemplificado pela seguinte reação química:



Alguns estudos também têm demonstrado a sensibilidade de espécies e clones de *Tradescantia* aos efeitos danosos dos raios-X, fontes radioisotópicas internas, externas e raios cósmicos (Ma 1979, Batalha *et al.* 1999, Gomes *et al.* 2002, Suyama *et al.* 2002, Leal *et al.* 2005, Minouflet *et al.* 2005, Santos *et al.* 2005). Com a passagem da radiação nas células, ou em parte delas, ocorre a liberação de energia, que pode resultar numa ionização e excitação dos átomos, podendo ocorrer a quebra de moléculas e, como consequência, a formação de íons e radicais livres

altamente reativos. Estes, por sua vez, podem atacar o DNA, resultando na sua mutação ou destruição (Okuno 1986).

Além das radiações artificiais existem as naturais, provenientes dos elementos radioativos na crosta terrestre como o potássio, céσιο, urânio, além das radiações cósmicas provenientes do espaço, ambas potencialmente deletérias aos seres vivos (CTMSP 2002).

No presente estudo, o teste Trad-MCN com *Tradescantia pallida* foi usado para investigar a genotoxicidade dos efluentes líquidos provenientes de cinco lavadores de gases que operam no CEA, dos gases considerados críticos gerados nos processos de enriquecimento de urânio (amônia e ácido fluorídrico) e da radiação ionizante gama. Além disso, este estudo teve como objetivo testar a sensibilidade do bioensaio Trad-MCN com *Tradescantia pallida*, aos elementos estudados e avaliar se esta planta pode ser utilizada em biomonitoramento rotineiro no CEA.

Materiais e métodos

Área de estudo - O trabalho foi desenvolvido nas dependências do Centro Experimental ARAMAR (CEA) – Centro Tecnológico da Marinha em São Paulo (CTMSP), que abrange uma área de aproximadamente 800 ha e localiza-se nas coordenadas 23°25' S e 47°32' W, verificadas a partir da Torre Meteorológica implantada na parte central do sítio (figura 1). O CEA encontra-se próximo à Floresta Nacional de Ipanema (FLONA), uma área de proteção ambiental pertencente ao município de Iperó - SP.

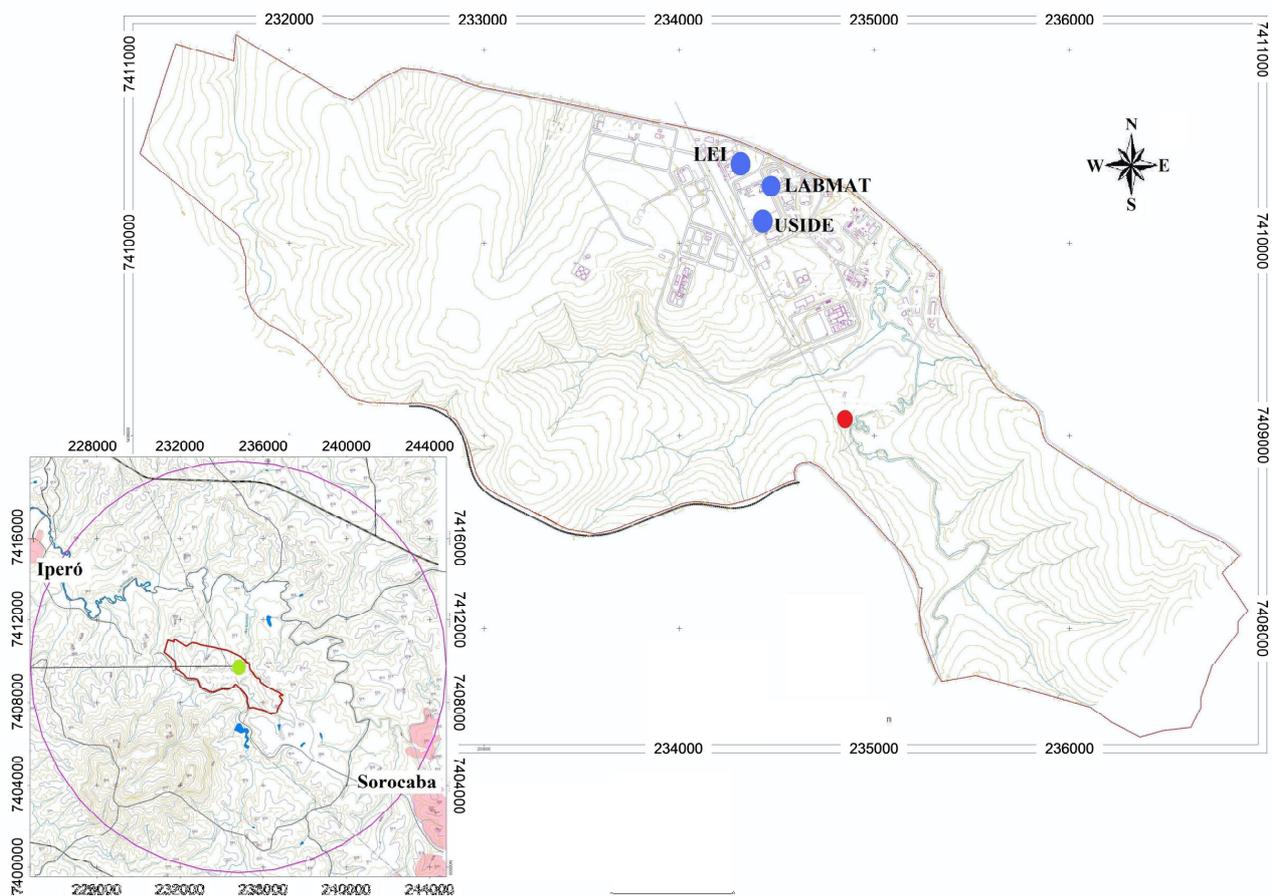


Figura 1: Localização da área estudo, no município de Iperó (SP). ● canteiro de *Tradescantia pallida* de onde foram retiradas as inflorescências para realização do Trad-MCN; ● torre meteorológica do CEA utilizada para a coleta de dados meteorológicos; ● localização dos lavadores de gases (LGs), de onde foram coletados os efluentes líquidos. LEI. Laboratório de Enriquecimento Isotópico; LABMAT. Laboratório de Materiais Nucleares; USIDE. Unidade de Demonstração Industrial de Enriquecimento Isotópico.

Espécie estudada - O estudo foi realizado com *Tradescantia pallida* cv. Purpurea (figura 2) e baseou-se em ensaios desenvolvidos em laboratório, sob condições ambientais controladas.

A espécie empregada, também conhecida como coração-roxo ou setecrésia, é uma planta originária do México, herbácea, ornamental muito utilizada em paisagismo, de fácil cultivo e

propagação e muito bem adaptada ao clima local, florescendo durante todo o ano. Para obtenção de inflorescências (figura 2A) para os ensaios, uma população de 1500 mudas foi cultivada em canteiro com substrato constituído de solo fértil e matéria orgânica, na proporção de 1;1, recebendo mensalmente rega com solução nutritiva NPK 10:10:10 e rega semanal com água (figura 2B). Esse canteiro foi estabelecido em local definido estrategicamente, distante cerca de 1 km das fontes de emissão atmosférica e em direção contrária à direção predominante dos ventos na região (S-SE) (figura 1).



Fonte: <http://marche.exblog.jp>

Figura 2. *Tradescantia pallida*, popularmente conhecida como coração-roxo. A. Detalhe da flor; B. canteiro padronizado para fornecimento de inflorescências para as exposições em laboratório.

O bioensaio Trad-MCN – para avaliação da genotoxicidade das diferentes substâncias testadas, cerca de 25 a 30 inflorescências jovens (com todos os botões fechados) de *Tradescantia pallida* cv. Purpurea, com aproximadamente de 6 a 8 cm de comprimento, foram coletadas em canteiro padronizado (figura 2B), 24 horas antes do início das exposições e deixadas sob aeração, com os pedúnculos parcialmente imersos em água de torneira em frasco tipo béquer, e mantidas em ambiente isento de substâncias químicas.

Ensaio com os efluentes líquidos de lavadores de gases - Os efluentes utilizados neste ensaio foram coletados de cinco lavadores de gases diferentes: LG 01, LG 02 e LG 03 localizados no Laboratório de Enriquecimento Isotópico (LEI); LG 04 localizado na Usina de Demonstração Industrial de Enriquecimento (USIDE) e; LG 05 localizado no Laboratório de Materiais Nucleares (LABMAT) (figura 1). Nas instalações onde os LGs operam são realizadas algumas fases do processo de enriquecimento de urânio.

A análise química desses efluentes é realizada rotineiramente no Laboratório Radioecológico e faz parte do programa de monitoramento ambiental desenvolvido no CEA. Os dados obtidos para os efluentes utilizados nos experimentos estão apresentados nos resultados.

Para a realização das exposições, foi construído no Laboratório Radioecológico do CEA, um sistema dinâmico aberto que simulasse um ambiente contaminado com os efluentes (figura 3).

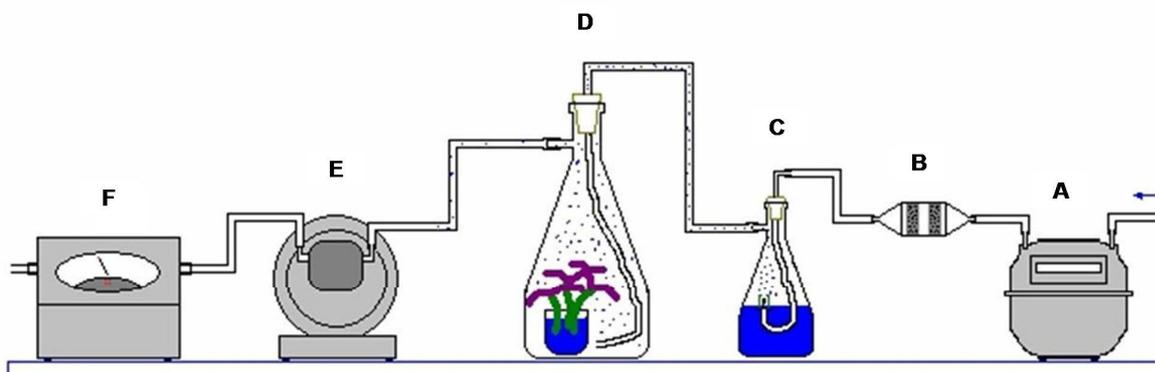


Figura 3. Representação esquemática do sistema dinâmico aberto para exposição de *Tradescantia pallida* aos efluentes de Lavadores de Gases. A. medidor de volume; B. filtro duplo de carvão ativado; C. unidade de nebulização; D. unidade de exposição (um de quatro - recipiente representado); E. bomba de vácuo; F. medidor de fluxo.

Foram realizados três tratamentos: exposições aos efluentes, controle positivo e controle negativo. Os tratamentos consistiram em exposições, na forma de nebulização, de inflorescências com os efluentes líquidos provenientes dos lavadores de gases e com solução aquosa de formaldeído 10 % (controle positivo). Além disso, foram feitas exposições somente com água destilada (controle negativo).

As inflorescências foram distribuídas aleatoriamente em quatro recipientes com água e colocadas na unidade de exposição do sistema (figura 3D). O período de exposição foi de seis horas, segundo protocolo estabelecido por Ma (1983), a um fluxo contínuo médio de 2 L min^{-1} , sendo que para cada tratamento foi realizada uma repetição.

Descreve-se a seguir o funcionamento do sistema. O que variou em cada tratamento foi o tipo de líquido depositado na unidade de nebulização (figura 3C): efluentes dos lavadores, solução de formaldeído (controle positivo) ou água destilada (controle negativo).

O ar do ambiente entrou no sistema pelo medidor de volume (figura 3A), forçado por uma pressão negativa, gerada pela bomba de vácuo (figura 3E), que fica localizada na parte final do mesmo. Passando pelo filtro de carvão ativado (figura 3B) e livre de impurezas, o ar foi transferido para a unidade de nebulização (figura 3C) através de mangueira, atravessando a rolha de borracha que veda essa unidade. Essa mangueira termina em um dispositivo que, devido à pressão negativa criada pela bomba, permite que o líquido seja succionado para seu interior, onde são formadas micro-gotículas que são transportadas ao longo do sistema por arraste, até atingir a unidade de exposição (figura 3D). Nessa unidade as micro-gotículas entraram pela parte inferior e saíram pela parte superior, formando uma névoa no interior desta unidade, de modo a garantir que as inflorescências aí depositadas fossem nebulizadas de forma homogênea. O ar, ao sair da unidade de exposição, passou por um medidor de fluxo (figura 3F) (que permitiu controlar o fluxo de renovação de ar no interior do sistema) e, em seguida foi novamente filtrado antes de voltar para o ambiente.

Ensaio com amônia – Os componentes do sistema destinado ao ensaio com amônia (NH_3) foram: cilindro de amônia, duas bombas de vácuo, filtros de carvão ativado, unidade de diluição, câmara de exposição com 16,8 L de volume, quatro potes de teflon com água onde as inflorescências foram colocadas, frasco borbulhador para coleta, medidor de volume de ar, frasco borbulhador para lavagem do gás excedente. Todos os componentes foram interligados por meio de mangueiras de silicone (Figura 4).

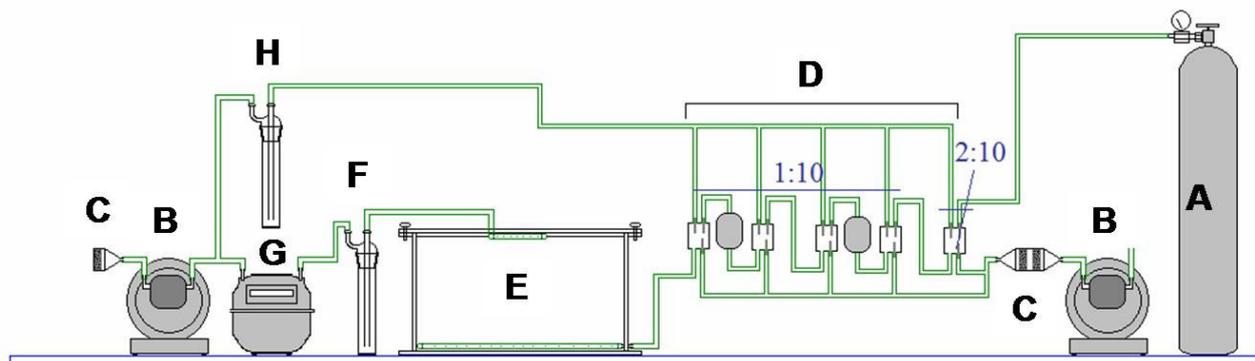


Figura 4. Desenho esquemático do sistema construído para exposições da *Tradescantia pallida* à amônia. A. cilindro de amônia 99%; B. bomba de vácuo; C. filtro de carvão ativado; D. unidade de diluição; E. câmara de exposição; F. frasco borbulhador para neutralização; G. medidor de volume; H. frasco borbulhador para coleta.

Todo o sistema foi calibrado para se conseguir a concentração de amônia desejada de $14 \mu\text{g L}^{-1}$ (microgramas por litro de ar) no interior da câmara de exposição. Esse valor teve como referência os limites de tolerância estabelecidos pela NR15 – norma regulamentadora de segurança e medicina do trabalho (Manuais de Legislação Atlas 1996).

A circulação do ar com o gás nesse sistema foi promovida por duas bombas de vácuo (figura 4B), instaladas na entrada e na saída do sistema. O ar filtrado entrou no sistema com uma vazão de 10 L min^{-1} , controlada pela bomba localizada na entrada. A vazão da amônia foi de 400 mL min^{-1} , com pressão de saída de 0,5 Bar, controladas pela válvula de saída do cilindro de amônia (figura 4A).

A unidade de diluição (figura 4D) foi composta de cinco frascos tipo erlenmeyer de vidro, vedados com rolhas de borracha, interligados com mangueiras de silicone. Nesta unidade o gás se

diluiu ao ar filtrado nas proporções de 2:10 no primeiro frasco e 1:10 nos demais frascos, sendo que as vazões de entrada e saída da solução dos frascos foram controladas por orifícios críticos previamente calibrados para uma vazão de 4 L min^{-1} , no primeiro frasco, e de 2 L min^{-1} , nos demais frascos, para se atingir a concentração desejada na câmara de exposição (figuras 4E). A direção do fluxo foi forçado por duas bombas para aquário, modelo PowerTM 100, intercaladas aos frascos da unidade de diluição (figura 4D). Nessa unidade foram instaladas duas saídas: a do gás diluído para a câmara de exposição e a do gás concentrado excedente.

Considerando que a densidade da amônia ($0,706 \text{ kg m}^{-3}$) é inferior à densidade do ar (1 kg m^{-3}), a entrada da solução na câmara de exposição deu-se pela parte inferior e a saída pela superior, para garantir a circulação do gás por todo o compartimento. A saída do gás foi forçada pela bomba de vácuo localizada no final do sistema (figura 4B).

Na saída da câmara de exposição foi instalado um frasco borbulhador com solução neutralizadora de H_2SO_4 , cuja concentração foi de $5,63 \text{ mol L}^{-1}$, que foi coletada após o término da exposição (figura 4F). O material contido no borbulhador, e posteriormente diluído para permitir a determinação, foi titulado com $\text{NaOH } 0,5 \text{ mol L}^{-1}$ para se saber o quanto de H_2SO_4 foi consumido pela reação deste ácido com a amônia que passou pelo sistema e, a partir dessa informação, calcular o volume real de amônia que passou pelo interior da câmara.

Entre o borbulhador e a bomba de vácuo foi colocado um medidor de volume de ar (figura 4G), que permitiu calcular a quantidade total do gás que passou pela câmara durante o período de exposição de seis horas.

Um outro frasco borbulhador com H_2SO_4 na concentração 1:1 foi colocado na saída da unidade de diluição para neutralizar o gás amônia excedente e garantir que o mesmo não saísse para o ambiente (figura 4H).

Para maior segurança, o sistema foi montado dentro de capela de exaustão.

Para as exposições de controle positivo, o cilindro de amônia e a unidade de diluição foram substituídos pela unidade de nebulização, com solução de formaldeído 10 %, descrita na figura 3D. Para as exposições de controle negativo, foram retirados do sistema o cilindro de amônia e a unidade de diluição, sendo o ar filtrado transferido diretamente para a câmara de exposição.

Ensaio com ácido fluorídrico – Nesse experimento, cerca de 20 a 30 inflorescências jovens foram transferidas para câmara de ambiente controlado onde receberam atmosfera com o ácido fluorídrico (HF). Além disso, foram feitas exposições para controle negativo, com ar filtrado e exposições para controle positivo com solução de formaldeído 10 %. Foi feita uma repetição para cada exposição.

As exposições foram feitas em laboratório, em sistema projetado especificamente para este gás, com materiais inertes devido à sua reatividade, e descrito a seguir (figura 5).



Figura 5. Sistema operacional para exposição de *T. pallida* ao ácido fluorídrico. A. medidor de volume; B. bomba de vácuo; C. frasco borbulhador para neutralização e coleta; D. câmara de exposição com as inflorescências; E. válvula de injeção de H_2SO_4 ; F. orifício para entrada de NaF; G. câmara de produção e armazenamento de ácido fluorídrico; H. sistema de gotejamento, I. dispositivo tipo êmbolo; J. filtro de carvão ativado.

Os componentes do sistema destinado à exposição ao ácido fluorídrico (HF), apresentados na figura 5 foram: sistema de gotejamento, composto por um recipiente com água e um gotejador (equipo) (figura 5H), dispositivo tipo êmbolo (5I), filtro de carvão ativado (figura 5J), câmara de produção e armazenamento de gás (figura 5G), câmara de exposição com 16,8 L de volume (figura

5D), quatro potes de teflon com água onde as inflorescências foram colocadas (figura 5D), frasco borbulhador para neutralização e coleta (figura 5C), medidor de volume de ar (figura 5A) e bomba de vácuo (figura 5B). Todos os componentes desse sistema foram interligados por mangueiras de silicone (figura 5).

Todo o sistema foi calibrado para se obter a concentração de ácido fluorídrico desejada de $1,5 \mu\text{g L}^{-1}$ (microgramas por litro de ar) no interior da câmara de exposição. Esse valor teve como referência os limites de tolerância estabelecidos pela NR15 – norma regulamentadora de segurança e medicina do trabalho (Manuais de Legislação Atlas 1996).

O ácido fluorídrico foi gerado a partir da reação química entre o sal de fluoreto de sódio (NaF) e ácido sulfúrico (H_2SO_4) descrita a seguir:



Essa reação ocorreu dentro de um balão volumétrico vazado, de teflon, instalado no interior da câmara de produção armazenamento. Para a produção de ácido fluorídrico (HF) foi introduzido nesse balão volumétrico, pelo orifício de entrada de NaF (figura 5F), uma massa de 10 mg (quantidade excedente) do sal fluoreto de sódio (NaF). O ácido sulfúrico foi o reagente limitante, assim o volume utilizado (5,4 mL) foi calculado para gerar o volume de ácido fluorídrico (4 mg) necessário para alimentar o sistema na concentração desejada ($1,5 \mu\text{g HF min}^{-1}$) durante o período de exposição de seis horas. Esse volume de H_2SO_4 foi injetado no balão através da válvula de injeção, com o auxílio de uma seringa dosadora.

O gás HF gerado foi diluído com ar filtrado, que penetrou no sistema através de uma mangueira fina, cuja entrada, localizava-se na saída da câmara de armazenamento.

A circulação do ar com o gás nesse sistema se deu por arraste, promovida por uma bomba de vácuo (figura 5B), instalada na saída do sistema, gerando uma pressão negativa para impedir vazamento de HF para o ambiente. Na câmara de exposição (figura 5D) foram dispostos os frascos de teflon contendo as inflorescências imersas em água.

A vazão do sistema foi controlada por orifícios críticos calibrados, localizados na saída da câmara de exposição e na entrada da bomba de vácuo. A vazão real foi registrada por meio de um medidor de volume (figura 5A) instalado no final do sistema.

Para que não ocorresse pressão negativa na câmara de armazenamento quando da saída do gás, e sua conseqüente ruptura, foi acoplado a ela um sistema de gotejamento conectado a um dispositivo tipo êmbolo (figuras 5H e 5I), para que, à medida que o gás fosse saindo da câmara, o êmbolo fosse empurrado pela água liberada de forma controlada pelo equipo, de maneira a preencher o espaço liberado pela saída do gás, evitando, assim, a formação de vácuo. O gotejamento foi previamente calibrado para que a água fosse liberada na mesma velocidade (aproximadamente 1 L min^{-1}) em que o gás saísse da câmara.

Considerando que a densidade do ácido fluorídrico ($0,714 \text{ kg m}^{-3}$) é inferior à densidade do ar (1 kg m^{-3}), a entrada do gás na câmara de exposição foi estabelecida na parte inferior e a saída na parte superior, para garantir a sua circulação do gás por todo o compartimento.

Na saída da câmara de exposição foi instalado um frasco borbulhador com solução neutralizadora de NaOH $0,005 \text{ mol L}^{-1}$ e fenolftaleína (indicador de pH), que foi coletada após o término da exposição (figura 5C). Esse borbulhador, além de permitir a verificação da concentração real de HF que passou pelo sistema, também funcionou como um lavador de gases (neutralizador), impedindo a saída do ácido para o ambiente. O material contido no borbulhador, e posteriormente diluído para permitir a sua determinação, foi titulado com HCl $0,005 \text{ mol L}^{-1}$ para se determinar a quantidade de NaOH consumida pela reação desta base com o ácido fluorídrico que passou pelo

sistema. Dessa maneira foi possível conhecer concentração real de ácido fluorídrico que circulou pela câmara durante o período de exposição de seis horas.

O ácido fluorídrico é um gás altamente tóxico, assim, algumas medidas de segurança foram tomadas: o sistema foi montado dentro de capela de exaustão; operou-se com pressão negativa para evitar vazamento para o ambiente; dentro da capela de exaustão foi colocado um detector de ácido fluorídrico portátil para indicar a ocorrência de HF a partir de 2,5 ppm (equivalente a $1,5 \mu\text{g L}^{-1}$). Após o desligamento do sistema, foi injetado no balão volumétrico, dentro da câmara de armazenamento, através da válvula de injeção, solução de NaOH $0,005 \text{ mol L}^{-1}$ e fenolftaleína, para neutralizar o HF residente e permitir a abertura das câmaras com segurança. A quantidade de NaOH injetada foi a suficiente para neutralizar o ácido, ou seja, a injeção da base só cessou quando a fenolftaleína, no interior da câmara de armazenamento, permaneceu com a coloração rosa

Para a exposição de controle positivo, a câmara de produção e armazenamento de HF foi substituída pela unidade de nebulização com solução de formaldeído 10 %, descrita na figura 3D e para a exposição de controle negativo, foi retirada do sistema a câmara de armazenamento e o ar filtrado foi transferido diretamente para a câmara de exposição.

Ensaio com radiação ionizante gama - No bioensaio, as plantas foram expostas à radiação gama emitida por um minério de urânio de baixa atividade. Trinta inflorescências de *T. pallida* foram divididas em seis grupos e colocadas em potes de vidro que foram dispostos em volta do minério. As taxas de radiação, emitidas em cada ponto do minério onde foram colocados os grupos de inflorescências, foram determinadas por meio de um detetor Geiger-Müller (figuras 6A, 6B e 7). Também foi feito ensaio para controle negativo, ou seja, a mesma situação experimental sem a presença do minério. Foram feitas repetições de todos os ensaios.

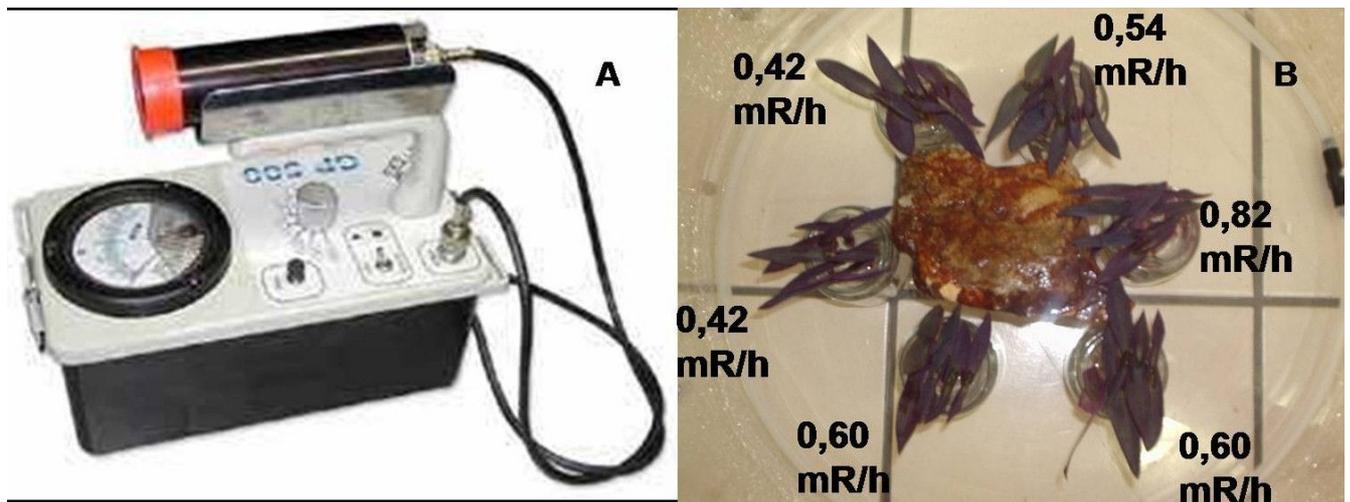


Figura 6. A. Detetor de radiação do tipo Geiger-Mülle; B. Inflorescências de *T. pallida* dispostas ao redor de minério de urânio, com as respectivas doses de radiação.

Para a realização deste bioensaio, foi projetado um sistema dinâmico, cujos componentes são: medidor de volume de ar (figura 7A), duplo filtro de carvão ativado (figura 7B), câmara de exposição (figura 7C), seis potes pequenos de vidro com água onde as inflorescências foram colocadas (figura 6B) e bomba de vácuo (figura 7D). Todos os componentes foram interligados através de mangueiras de silicone (figura 7).

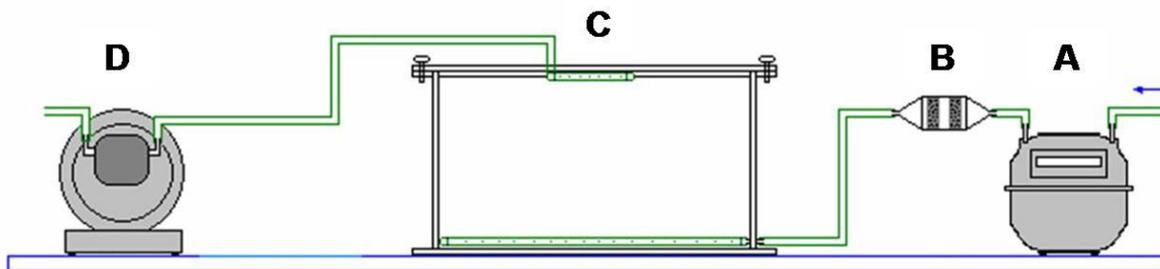


Figura 7. Desenho esquemático do sistema projetado para exposições de *T. pallida* à radiação ionizante. A. medidor de volume; B. duplo filtro de carvão ativado; C. câmara de exposição; D. bomba de vácuo.

O ar do ambiente penetrou no sistema pelo medidor de volume (figura 7A), forçado por uma pressão negativa gerada pela bomba de vácuo (figura 7D), localizada na parte final do sistema. Após passar pelo medidor de volume, o ar passou pelo filtro de carvão ativado (figura 7B), para eliminar impurezas provenientes do ar do ambiente. Depois de filtrado, passou pela câmara de exposição (figura 6B e 7C) contendo as inflorescências dispostas ao redor do minério de urânio, nos potes de vidro contendo água. Assim, garantiu-se a circulação de ar no interior da câmara de exposição para que as planta tivesse as condições ideais vitais.

Período de recuperação - Para todos os ensaios descritos anteriormente, o período de exposição foi de seis horas, após as quais, os pedúnculos permaneceram parcialmente imersos em água, por 24 horas, sob aeração, em ambiente isento de contaminantes. Esse é o tempo de recuperação necessário para que a meiose prossiga da fase inicial da prófase I, quando as células geradoras dos grãos de pólen estão suscetíveis à ação de agentes genotóxicos até as fase de tétrades jovens da meiose II quando as quebras cromossômicas são visualizadas.

Fixação e preservação - Após o período de recuperação, as inflorescências foram fixadas em solução de ácido acético glacial e etanol 95% 1:3, por 24 horas e posteriormente foram transferidas para frasco com etanol 95 %, para preservação.

Contagem de micronúcleos – A preparação das lâminas para contagem dos micronúcleos foi feita segundo o protocolo estabelecido por Ma (1983) para os clones híbridos de *Tradescantia*. De acordo com o protocolo (figura 8 A-J), seleciona-se o botão apropriado (figura 8B), que será aberto e suas anteras maceradas sobre uma lâmina de microscópio em solução corante aceto-carmim (Roth 1964). A seguir, deverão ser retirados os fragmentos (debris) para a colocação da lamínula. Em seguida, aquece-se a lâmina em placa aquecedora (80 °C) para a fixação do corante. Pressiona-se a lamínula suavemente para achatamento das tétrades. O reconhecimento e a contagem dos micronúcleos são realizados sob aumento de 400X em microscópio ótico. Para cada lâmina, devem ser anotados os números de micronúcleos presentes num grupo aleatório de 300 tétrades.

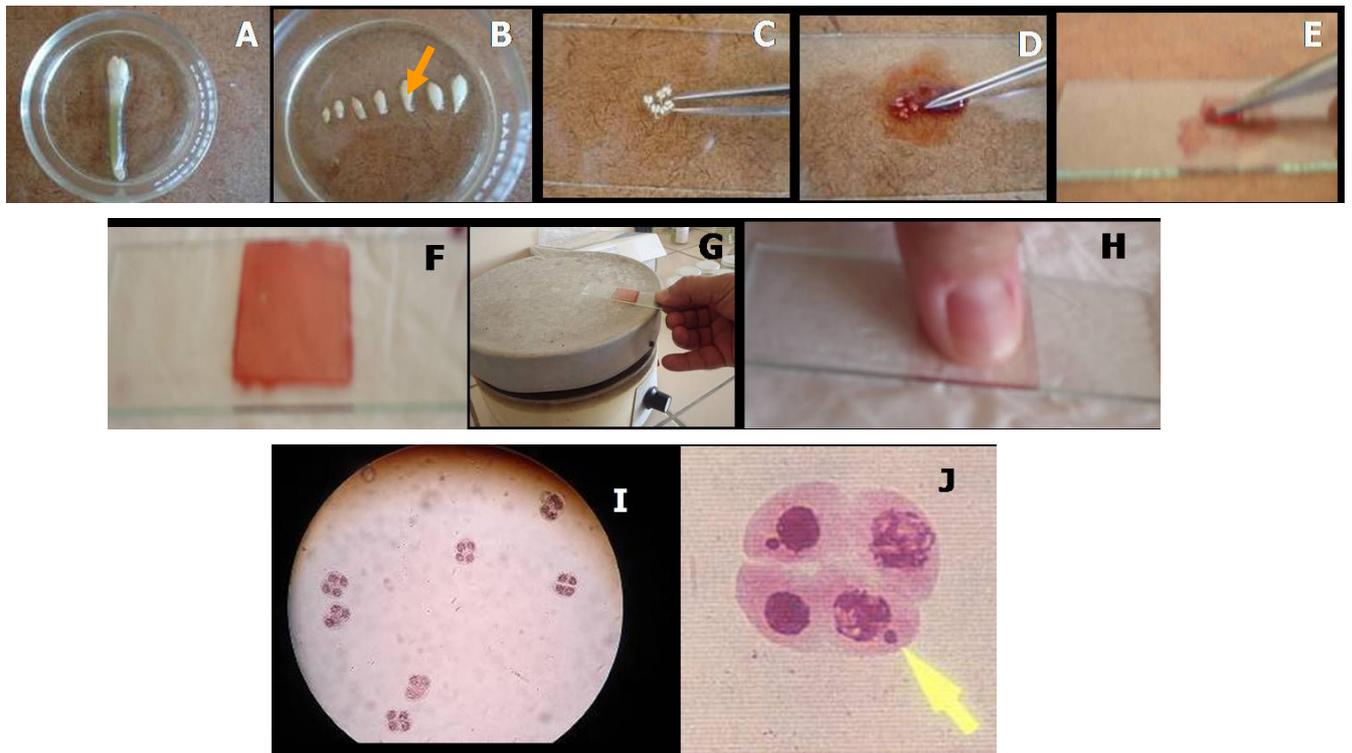


Figura 8. Esquema da técnica de preparo de lâmina para contagem de micronúcleos. A. inflorescência fixada; B. seleção do botão apropriado (seta); C. separação das anteras de um botão dissecado; D. maceração das anteras com corante aceto-carmim sobre lâmina; E. retirada dos debris (fragmentos); F. colocação da lamínula; G. aquecimento para fixação do corante; H. achatamento das tétrades; I. visualização de tétrades sob aumento de 200X; J. visualização de tétrade com micronúcleos (MCN) sob aumento de 400X.

Para cada tratamento foram preparadas 10 lâminas, sempre que possível, obtendo-se uma população estatística de 3000 tétrades por tratamento. As frequências de micronúcleos foram expressas em porcentagem.

Análises estatísticas - Todos os dados foram submetidos a análises estatísticas, utilizando o programa de estatística BioEstat versão 2.0. Para identificar as variações significativas de cada ensaio com os controles e entre os tratamentos, foi usada a análise de variância Kruskal-Wallis.

Resultados

Efluentes dos lavadores de gases - Os resultados das análises químicas para conhecimento da composição química desses efluentes estão na tabela 1.

Tabela 1. Resultados das análises químicas nos efluentes dos lavadores de gases

Lavador de gases	Fluoreto (mg F L ⁻¹)	Urânio (mg U L ⁻¹)	pH
LEI-LG 01	5,76	0,11	8,4
LEI-LG 02	3,59	1,3	8,3
LEI-LG 03	2,78	0,012	9,1
USIDE-LG 04	6,41	0,074	8,6
LABMAT-LG 05	2,15	0,13	8,3

LEI-LG. lavador de gases do Laboratório de Enriquecimento Isotópico; USIDE-LG. lavador de gases da Usina de Demonstração Industrial de Enriquecimento; LABMAT-LG. lavador de gases do Laboratório de Materiais Nucleares.

Os valores médios e os respectivos desvios padrões dos resultados obtidos nos ensaios laboratoriais estão apresentados na tabela 2. A figura 9 mostra a comparação entre as medianas das respostas das plantas aos tratamentos aos quais foram submetidas.

Tabela 2. Frequência de micronúcleos induzida pelos efluentes líquidos no bioensaio Trad-MCN.

Grupos experimentais	MCN/100 Média ± SE
LEI-LG 01	2,79 ± 1,93 ^a
LEI-LG 02	2,04 ± 1,21 ^{ab}
LEI-LG 03	1,71 ± 1,27 ^{ab}
USIDE-LG 04	1,42 ± 1,25 ^b
LABMAT-LG 05	2,76 ± 2,30 ^a
Controle positivo	2,32 ± 0,95 ^a
Controle negativo	2,25 ± 1,79 ^{ab}

As médias indicadas com letras distintas diferem entre si significativamente, com $P < 0,05$ pela análise de variância Kruskal-Wallis. SE. desvio padrão; MCN. micronúcleo; LEI-LG. lavador de gases do Laboratório de Enriquecimento Isotópico; USIDE-LG. lavador de gases da Usina de Demonstração Industrial de Enriquecimento; LABMAT-LG. lavador de gases do Laboratório de Materiais Nucleares.

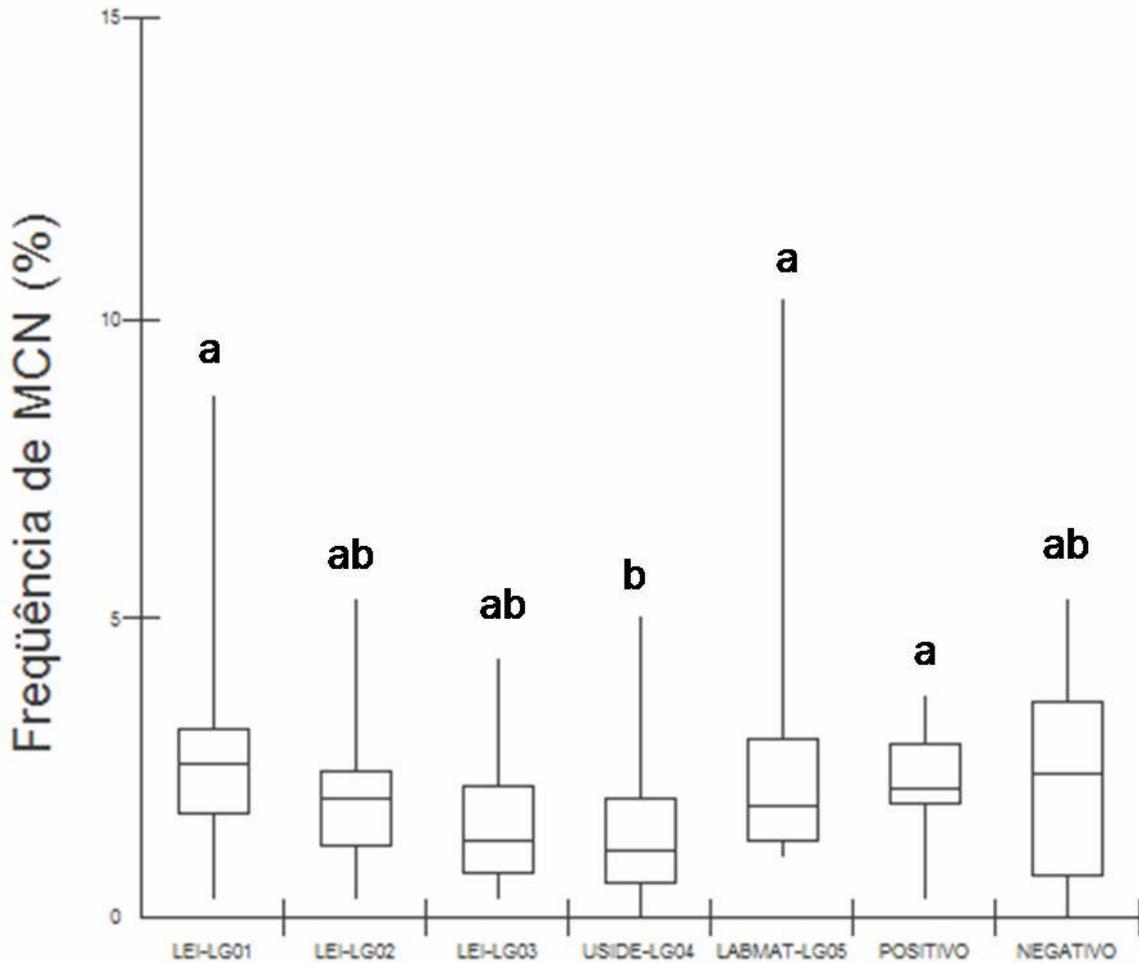


Figura 9. Comparação da frequência de micronúcleos entre os grupos experimentais e os controles positivo e negativo. Os grupos experimentais indicados com letras diferentes diferem entre si significativamente ($P < 0,05$). LEI-LG. lavador de gases do Laboratório de Enriquecimento Isotópico; USIDE-LG. lavador de gases da Usina de Demonstração Industrial de Enriquecimento; LABMAT-LG. lavador de gases do Laboratório de Materiais Nucleares.

As inflorescências expostas aos efluentes testados apresentaram micronúcleos, porém não houve diferenças significativas na maioria das amostras, com exceção para a amostra da USIDE-LG04, que apresentou diferença estatisticamente significativa em relação ao controle positivo ($P <$

0,05) e aos grupos experimentais LEI-LG 01 e LABMAT-LG 05. Também não houve diferença significativa entre os grupos experimentais LEI-LG 01, LEI-LG02, LEI-LG03 e LABMAT-LG 05 e os controles positivo e negativo ($P > 0,05$). Os grupos LEI-LG 01 e LEI-LG 03, apesar de não apresentarem diferenças significativas, apresentaram uma significância marginal, ou seja, muito próximo de ser estatisticamente significativa ($P = 0,06$). O mesmo ocorreu com os grupos experimentais LEI-LG 02 e USIDE-LG 04 ($P = 0,09$).

Amônia e ácido fluorídrico – A tabela 3 apresenta a frequência média de micronúcleos para cada tratamento. A diferença entre os tratamentos e os controles foi estatisticamente significativa ($P < 0,05$). O teste de análise de variância Kruskal-Wallis mostrou que a frequência de micronúcleos observada no controle negativo foi significativamente menor que aquelas dos ensaios com amônia ($P = 0$) e ácido fluorídrico ($P = 0,0003$), mas não apresentou diferença significativa em relação ao controle positivo ($P = 0,157$). A frequência de micronúcleos verificada nos ensaios com amônia não foi significativamente diferente dos resultados obtidos nos testes com ácido fluorídrico, mas apresentou uma significância marginal ($P < 0,06$). Os ensaios tanto com amônia, quanto com ácido fluorídrico diferiram significativamente do ensaio com solução de formaldeído (controle positivo) com valores de $P < 0,05$, para ambas as situações.

Tabela 3. Freqüências médias de micronúcleos, com os respectivos desvios padrões, obtidas nos diferentes tratamentos aos quais as plantas foram submetidas.

Tratamentos	MCN/100
	Média ± SE
NH ₃	10,55 ± 4,87 ^a
HF	7,00 ± 0,00 ^a
Controle positivo	3,01 ± 2,03 ^b
Controle negativo	2,03 ± 1,39 ^b

As médias indicadas com letras distintas diferem entre si significativamente, com $P < 0,05$ pela análise de variância Kruskal-Wallis. NH₃. amônia; HF. ácido fluorídrico.

A figura 10 apresenta as medianas de cada um dos tratamentos aos quais as plantas foram submetidas.

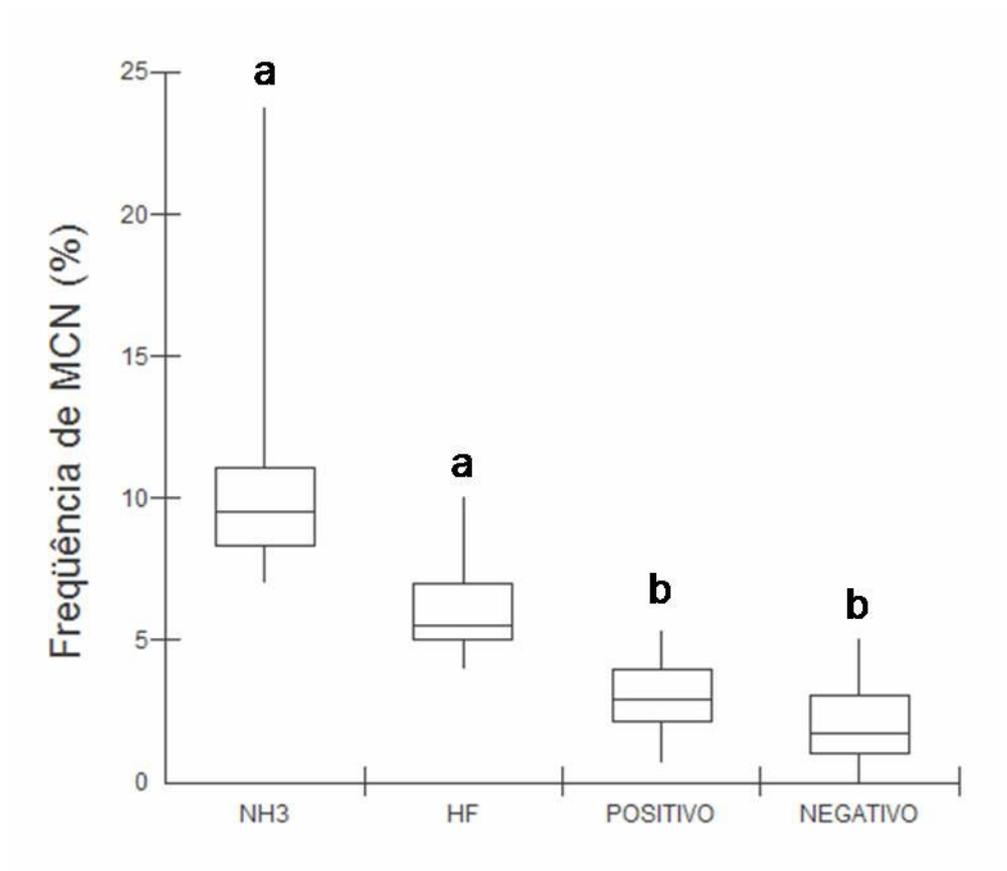


Figura 10. Representação em box-plot das frequências de micronúcleos presentes nos grupos experimentais. Os grupos experimentais indicados com letras diferentes diferem entre si significativamente ($P < 0,05$).

Devido à complexidade do sistema delineado para os ensaios com amônia, houve perda de 90 % do gás durante seu percurso dentro do sistema. Mesmo com a concentração obtida dentro da câmara de exposição sendo $0,14 \mu\text{g L}^{-1}$, esta foi suficiente para induzir a formação de micronúcleos.

Radiação ionizante gama - Os resultados da frequência média de micronúcleos para os grupos que receberam diferentes doses de radiação estão apresentados na tabela 5. O controle negativo apresentou frequência de micronúcleos significativamente diferente de todos os grupos expostos à radiação ($P < 0,05$), com exceção do grupo 5 ($0,60 \text{ mR h}^{-1}$). Esse grupo, embora não seja significativamente diferente do controle negativo, apresenta uma significância marginal ($P = 0,07$). Não houve diferença significativa entre os seis grupos expostos às diferentes taxas de exposição.

A figura 11 mostra uma comparação entre as medianas dos resultados obtidos nos seis grupos expostos a diferentes doses de radiação e do controle negativo.

Tabela 5. Frequências médias de micronúcleos, verificadas nos grupos de inflorescências dispostos ao redor do minério de urânio e nos ensaios para controle positivo e negativo.

Grupo	Exposição (mR h ⁻¹)	MCN/100
		Média ± SE
1	0,42	5,33 ± 1,63 ^a
2	0,42	7,85 ± 6,02 ^a
3	0,54	4,14 ± 1,95 ^a
4	0,60	5,05 ± 2,79 ^a
5	0,60	3,31 ± 0,98 ^{ab}
6	0,82	5,33 ± 2,52 ^a
Negativo	-	2,06 ± 1,42 ^b

As médias indicadas com letras distintas diferem entre si significativamente, com $P < 0,05$ pela análise de variância Kruskal-Wallis.

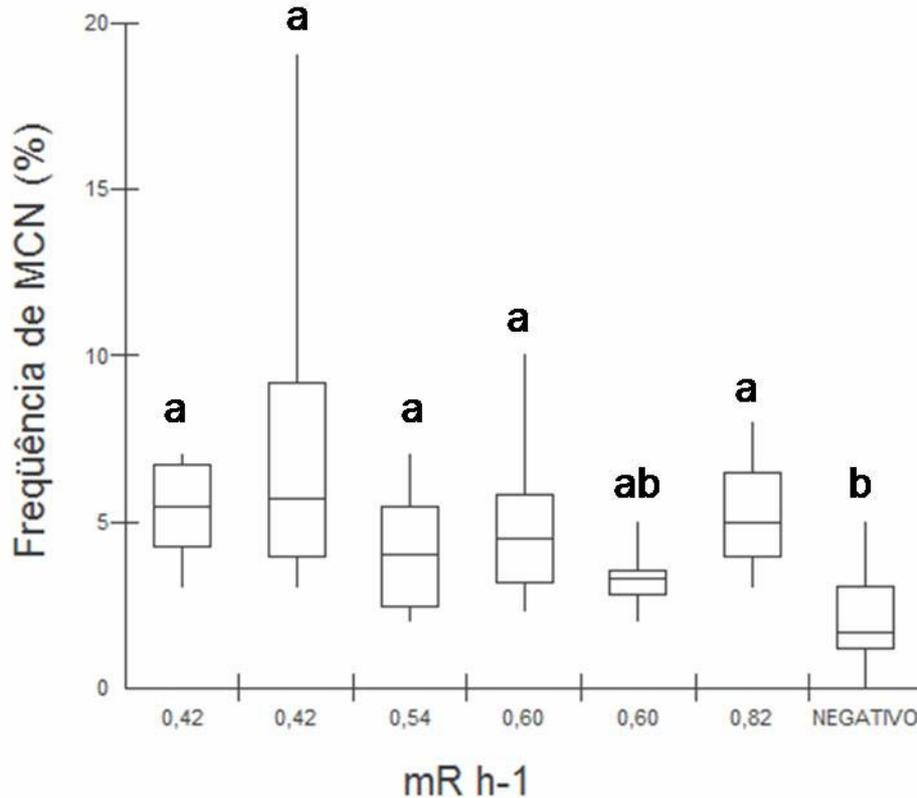


Figura 11. Gráfico box-plot para comparação entre as frequências de micronúcleos verificadas nos seis grupos de inflorescências dispostas ao redor do minério de urânio e nos controles positivo e negativo. Os grupos indicados com letras distintas diferem significativamente entre si, com $P < 0,05$.

Discussão

Efluentes dos lavadores de gases – O pH alcalino dos efluentes líquidos é promovido pela presença do hidróxido de potássio, utilizado nos lavadores de gases para neutralizar o ácido fluorídrico (HF) proveniente dos sistemas de exaustão dos laboratórios. O fluoreto (F⁻) encontrado nas amostras é resultante da reação do ácido fluorídrico (HF) com o hidróxido de potássio,

apresentando-se complexado com o íon sódio (NaF), resultante da reação do ácido fluorídrico com o hidróxido de sódio: $KF + H_2O \leftrightarrow HF + KOH$. Esta é a forma assimilada pelas plantas (Arndt *et al.* 1995). O urânio analisado se apresenta na forma mineral e as concentrações obtidas para esse elemento, assim como os valores de fluoreto observados nas amostras, não foram suficientes para induzir significativamente a formação de micronúcleos. A frequência média de micronúcleos encontrada no controle negativo foi similar à encontrada em tratamentos de controle relatados em outros estudos com o bioensaio Trad-MCN, com inflorescências de *T. pallida* cv. Purpurea, com vistas a determinar o potencial clastogênico de poluentes, seja em ambiente urbano ou em ambientes internos de laboratórios (Alves *et al.* 2003, Batalha *et al.* 1999, Guimarães 2003, Guimarães *et al.* 2000, Miyazato 1999, Santos, 2004). Os resultados obtidos com as exposições de inflorescências aos efluentes líquidos também foram semelhantes aos verificados em ensaios com resíduos catalíticos (pasta e efluente líquido) provenientes do processo de produção de polipropileno, que foram considerados de baixa genotoxicidade (Santos 2004). Assim, essa similaridade entre os resultados reforça o baixo potencial tóxico dos efluentes líquidos aos quais as plantas foram expostas.

O fato dos resultados dos grupos experimentais não diferirem significativamente do controle negativo indica uma baixa genotoxicidade dos efluentes utilizados. Isso é possível, já que, nos últimos 12 meses, as unidades industriais, nas quais os lavadores de gases estão instalados, operaram apenas parcialmente. A solução de formaldeído 10 % nebulizada, não foi genotóxica. Provavelmente, devido à forma de utilização dessa substância é que não se obteve resultados significativamente diferentes dos tratamentos. Outros autores que mergulharam inflorescências de *T. pallida* nessa solução, observaram aumento na frequência de micronúcleos em relação aos respectivos controles negativos (Alves *et al.* 2003, Batalha *et al.* 1999, Guimarães 2003).

Amônia e ácido fluorídrico - Por não terem sido encontradas publicações de trabalhos com ensaios laboratoriais da *T. pallida* aos gases amônia e ácido fluorídrico utilizados neste estudo, o experimento foi projetado para se obter concentrações iguais às concentrações consideradas como limite de tolerância para exposição de trabalhadores, definido pela NR 15 - Norma Regulamentadora de segurança e medicina do trabalho (Manuais de Legislação Atlas 1996), acima dos quais o ambiente é considerado insalubre. As frequências médias de micronúcleos encontradas nos tratamentos, tanto com o ácido fluorídrico quanto com amônia, foram similares aos resultados obtidos em ensaios com formas líquidas e gasosas de pesticidas (dimetoato, atrazina, simazina e dicamba), utilizando clones híbridos de *Tradescantia*, descritos por Mohammed & Ma (1999), cujos resultados foram considerados uma indicação de alta genotoxicidade dos elementos testados. Novamente, o fato do controle positivo não diferir do controle negativo, mas estes serem diferentes dos tratamentos, reforça a idéia de que a solução de formaldeído 10% quando nebulizada não apresenta genotoxicidade, ao contrário do observado quando as inflorescências são mergulhadas nessa solução.

Radiação ionizante gama - Foi observada uma relação dose-resposta significativa entre a frequência de micronúcleos e as taxas de exposição de radiação gama empregadas no bioensaio. Essa relação pode não ser linear, visto que, segundo Santos *et al.* (2005), existem mecanismos aos quais a célula recorre para se proteger contra a ação das radiações ionizantes e, provavelmente, contra outros agentes agressores do material genético. A radiação gama é uma radiação eletromagnética, que se propaga na forma de movimentos ondulatórios, entretanto, os raios-X são radiações da mesma natureza da radiação gama, com características idênticas, diferindo apenas pela origem: os raios-X são energia atômica e os raios gama são energia nuclear (Cardoso *et al.* 2007,

CTMSP 2002). Por isso é possível comparar as respostas das plantas expostas à radiação com as expostas ao raio-X.

Os efeitos mutagênicos do raio-X são conhecidos há muito, tendo sido descritos para *Drosophila* por Muller (1927 *apud* Santos *et al.* 2005), que observou uma relação linear entre a dose de radiação a que um organismo é exposto e o número de mutações produzidas. Contudo, Russell (1956), trabalhando com células germinativas de fêmeas de ratos, mostrou que para doses baixas de radiação não existe linearidade na resposta.

As taxas de ionização produzidas pelo minério de urânio utilizado foram baixas, menores que as diversas fontes de radiação natural existentes: espaço cósmico, materiais radioativos naturais e radioisótopos naturais existentes no organismo humano (CTMSP 2002). Em estudos com exposições das inflorescências de *Tradescantia* clone BNL 4430 a baixas doses de radiação gama, por meio do bioensaio Trad-SH, foram obtidos resultados não lineares de dose-resposta, discordando da hipótese de dose-efeito linear descrita por Maugh II (1978) (*apud* Gomes *et al.* 2002). O efeito genotóxico da radiação ionizante também foi reportado por Minouflet *et al.* (2005), que utilizaram o bioensaio Trad-MCN para avaliar a clastogenicidade de baixas doses emitidas pelo ^{137}Cs e verificaram ser este teste sensível e efetivo para avaliar efeitos genotóxicos da contaminação radioativa por ^{137}Cs (Minouflet *et al.* 2005). Segundo Carvalho (2005), *Tradescantia pallida* é igualmente sensível a baixas doses de radiação, assim como o clone 4430 e a resposta a baixos níveis de radiação obtida pelo teste Trad-MCN, raramente é obtida com outros ensaios biológicos. Os resultados mostram que a taxa de ionização produzida pelo minério foi suficiente para induzir a formação de micronúcleos em níveis considerados de alta genotoxicidade, em comparação com os níveis verificados por Santos *et al.* (2005), quando estudou os efeitos de baixas taxas de exposição à radiação ionizante de clone de *Tradescantia* BNL 4430, usando o bioensaio Trad-SH.

Conclusões

Pode-se concluir, com os resultados obtidos, que as exposições aos efluentes líquidos provenientes dos lavadores de gases apresentaram baixa atividade genotóxica. Isso é possível, já que as unidades industriais e os laboratórios nos quais os lavadores de gases operam estão com suas atividades funcionando parcialmente. O teste para controle positivo também não diferiu significativamente dos grupos experimentais e do controle negativo, isso sugere que metodologia utilizada para o controle positivo não foi apropriada.

Os gases considerados críticos provenientes do processo de enriquecimento de urânio, amônia e ácido fluorídrico, apresentaram alto potencial genotóxico quando testados em ensaios laboratoriais, em sistemas controlados. O mesmo pode ser dito sobre os ensaios com radiação ionizante. Apesar das baixas doses de radiação gama emitidas pelo minério de urânio utilizado, estas foram suficientes para promover quebras do DNA evidenciadas pelo bioensaio Trad-MCN, que foi uma ferramenta eficaz para avaliação do potencial mutagênico de radiações ionizantes.

Os resultados obtidos indicaram que a *T. pallida* é um bioindicador sensível aos gases amônia e ácido fluorídrico e à radiação ionizante gama e pode ser usada para monitoramento ambiental *in vitro* dos contaminantes aéreos na área de estudo.

Literatura citada

- Alves, E.S., Pedroso, A.N.V., Domingos, M., Guimarães, E.T. & Saldiva, P.H.N. 2003. Biomonitoramento *indoor* do potencial mutagênico do ar em laboratórios e herbário do Instituto de Botânica por meio do bioensaio Trad-MCN. *Hohenea* 30: 89-94.

- Alves, E.S., Souza, S.R., Pedroso, A.N.V. & Domingos, M.** 2007. Potential of the Trad-MCN assay applied with inflorescences of *Tradescantia pallida* 'Purpurea' for evaluating air contamination by naphthalene. doi 10.1016/j.ecoenv.2007.09.006.
- Arndt, U., Flores, F., Weinstein, L.** 1995. Efeitos do flúor sobre as plantas: diagnose de danos na vegetação do Brasil. Editora UFRGS, Porto Alegre.
- 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 *Tradescantia* micronuclei assay. Mutation Research 426: 229-232.
- Brena, N.A.** 2002. A chuva ácida e os seus efeitos sobre as florestas. 1ª edição. Fundação Biblioteca Nacional. São Paulo.
- Cardoso, E.M., Alves, I.P., Braz, C. & Pestana, S.** 2007. Apostila educativa: aplicações da energia nuclear. Comissão Nacional de Energia Nuclear. www.cnen.gov.br (acesso em 11.07.2007).
- Carvalho, H.A.** 2005. A *Tradescantia* como bioindicador vegetal na monitoração dos efeitos clastrogênicos das radiações ionizantes. Radiologia Brasileira 38: 459-462.
- CETESB.** 2008. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. 2008. Efeitos da poluição atmosférica na vegetação. <http://www.cetesb.sp.gov.br/Solo/vegetacao/poluicao.asp> (acesso em 28.01.2008).
- Chaves, A.L.F., Silva, E.A.M., Azevedo, A.A., Cano, M.A.O. & Matsuoka, K.** 2002. Ação do flúor dissolvido em chuva simulada sobre *Panicum maximum* Jacq. e *Chloris gayana* Kunth. (capim-rhodes) - Poaceae. Acta Botanica Brasilica 16(4): 395-406.
- CTMSP.** 1997. Centro Tecnológico da Marinha em São Paulo 1997. Plano de Monitoração Ambiental do Centro Experimental ARAMAR.

- CTMSP.** 2002. Centro Tecnológico da Marinha em São Paulo. 2002. Treinamento em proteção radiológica. CTMSP, São Paulo.
- Delone, N.L., Antipov, V.V. & Parfenov, G.P.** 1986. New type of chromosomal mutation observed in *Tradescantia paludosa* microspores during experiments in space satellites. Doklady Akademii Nauk Sssr 40: 163-173.
- Fellenberg, G.** 1980. Introdução aos problemas da poluição ambiental. EPU, São Paulo.
- Gomes, H.A., Nouailhetas, Y., Silva, N.C., Mezrahi, A., Almeida, C.E.B. & Rodrigues, G.S.** 2002. Biological response of *Tradescantia* stamen-hair to high levels of natural radiation in the Poços de Caldas plateau. Brazilian Archives of Biology and Technology 45: 301-307.
- Guimarães, E.T.** 2003. Poluição atmosférica na cidade de São Paulo e mutagênese: avaliação de riscos utilizando bioindicadores vegetais do gênero *Tradescantia*, Tese de Doutorado, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- 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 genotoxicity of air pollutants in and around the city of São Paulo (Brazil) with the *Tradescantia*-micronucleous (Trad-MCN) assay. Environmental and Experimental Botany 44: 1-8.
- Leal, T.C.S., Crispim, V.R., Correa R.S. & Gomes H.A.** 2005. Controle ambiental da genotoxicidade da radiação ionizante usando sistema bioindicador. Anais do International Nuclear Atlantic Conference de 2005.
- Luiz, E.J., Lavendowski, I.M.F., Oliveira, G.P., Guimarães, E.T., Domingos, M. & Saldiva, P.H.N.** 2005. Biomonitoramento da qualidade do ar em Santo André. Serviço Municipal de Saneamento Ambiental de Santo André (SEMASA), Santo André.
- Manuais de Legislação Atlas.** 1996. Segurança e medicina do trabalho. Editora Atlas SA, São Paulo.

- Ma, T.H.** 1979. Micronuclei induced by X-rays and chemical mutagens in meiotic pollen mother cells of *Tradescantia* – a promising mutagen system. *Mutation Research* 64: 307-313.
- Ma, T.H.** 1982. *Tradescantia* cytogenetic tests root-tip mitosis, pollen mitosis, pollen mother-cell meiosis. *Mutation Research* 99: 293-302.
- Ma, T.H.** 1983. *Tradescantia*-micronucleus Trad-MCN test for environmental clastogens. *In*: A.R. Kolber, T.K. Wong, L.D. Grant, R.S. DeWoskin, T.J. Hughes (eds.). *In vitro toxicity testing of environmental agents*. Part A, Plenum, New York, pp. 191-214.
- Ma, T.H., Anderson, V.A. & Ahmed, I.** 1982. Environmental clastogens detected by meiotic pollen mother cells of *Tradescantia*. *In*: R.R. Tice, D.L. Costa, K.M. Schaich (eds.). *Genotoxic effects of airborne agents*. Plenum Press, New York, pp. 141-157.
- Ma, T.H. & Grant, W.F.** 1982. The *Tradescantias* – adventurous plants. *The herbarist* 48: 36-44.
- Minouflet, M., Ayrault, S., Badot, P.M, Cotelle, S. & Ferard, J.F.** 2005. Assessment of the genotoxicity of ^{137}Cs radiation using *Vicia*-micronucleus, *Tradescantia*-micronucleus and *Tradescantia*-stamen-hair mutation bioassays. *Journal of Environmental Radioactivity* 81: 143-153.
- 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.
- Mohammed, K. & 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.
- Okuno, E., Caldas I.L. & Chow, C.** 1986. Física para ciências biológicas e biomédicas. Editora Harbara Ltda. São Paulo, SP.

- Ribeiro, R.L., Salvatori, F.M.D. & Marques, K.E.** 2003. Mutagênese ambiental. ULBRA, Canoas, 356 pp.
- Rodrigues, G.S., Samia, A.M. & Leonard, H.W.** 1996. Genotoxic activity of ozone in *Tradescantia*. Environmental and Experimental Botany 36: 45-50.
- Roth, I.** 1964. Microtecnica Vegetal. Imprenta Universitaria-Universidad Central de Venezuela, Caracas.
- Russel, W.L.** 1956. Lack of linearity between mutation rate and dose for X-ray induced mutation in mice. Genetics 41: 655-658.
- Sandhu, S.S., Ma, T.H., Peng, Y. & Zhou, X.** 1989. Clastogenicity evaluation of seven chemicals commonly found at hazardous industrial waste sites. Mutation Research 224: 43-445.
- Santos, I.T.Q.P.** 2004. Avaliação da atividade clastogênica do resíduo catalítico industrial, por meio do bioensaio de micronúcleo com *Tradescantia pallida* cv. Purpurea. Tese de doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Santos, T.C., Crispin, V.R., Noualhetas, Y., Macacini, J.F. & Gomes, H.A.** 2005. The study of the effects of low-level exposure to ionizing radiation using a bio-indicator system. Applied Radiation and Isotopes 62: 313-316.
- Savóia, E.J.L** 2007. Potencial de *Tradescantia pallida* cv. Purpurea para biomonitoramento da poluição aérea de Santo André – São Paulo, por meio do bioensaio Trad-MCN e do acúmulo foliar de elementos tóxicos. Dissertação de mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Silva, J.S.** 2005. Efeitos genotóxicos em tétrades de *Tradescantia pallida* (Rose) D. R. Hunt var. *purpurea* induzidos por poluentes atmosféricos na cidade de Salvador-BA. Monografia, Universidade Federal de Feira de Santana, Feira de Santana-BA.

Capítulo 2

Biomonitoramento *in situ* de fontes estacionárias de contaminação atmosférica por meio do bioensaio Trad-MCN com *Tradescantia pallida* e da análise de acúmulo foliar dos íons fluoreto e urânio

RESUMO - O biomonitoramento da contaminação atmosférica constitui importante procedimento para adoção de medidas de controle ambiental. Ensaio biológico têm sido bastante empregados para avaliar agentes genotóxicos presentes no ambiente. O teste de micronúcleo em *Tradescantia* (Trad-MCN) tem sido bastante utilizado no monitoramento ambiental por sua eficácia na detecção de danos cromossômicos em preparações citológicas de fácil execução. No presente trabalho, foi avaliada a viabilidade de utilização desse bioensaio com *Tradescantia pallida* cv. Purpurea para monitoramento ambiental no Centro Experimental Aramar (CEA), em Iperó – SP, bem como a capacidade acumuladora de fluoreto e urânio dessa cultivar. As plantas foram expostas *in situ*, em canteiros ou floreiras, instalados próximos às fontes de emissão atmosférica e o bioensaio foi realizado de acordo com protocolo já consagrado. As frequências de micronúcleos foram comparadas fazendo-se uso da análise de variância Kruskal-Wallis. A irregularidade dos resultados obtidos indicou que o modelo de biomonitoramento adotado não foi adequado, uma vez que os fatores climáticos podem ter influenciado as respostas observadas. Verificou-se, contudo que a planta acumulou discriminadamente o urânio.

Palavras-chave: acúmulo foliar, genotoxicidade, micronúcleo, monitoramento ambiental

ABSTRACT - The biomonitoring of the atmospheric contamination constitutes important procedure for adoption of environmental control measures. Biological assays have been

employed to evaluate genotoxic agents in the atmosphere. The Tradescantia-micronucleus (Trad-MCN) assay has been extensively used in environmental monitoring owing to its efficacy in the detection of chromosomal damages in cytological preparations of easy execution. In this study we tested the viability of use of Trad-MCN with *Tradescantia pallida* cv. Purpurea for environmental monitoring in the Experimental Center Aramar (CEA), in Iperó – SP and its leaf accumulation capacity. The plants were exposed *in situ*, in flower-beds or flowerpots, established close to the sources of atmospheric emission. The bioassay was accomplished in according to the usual protocol. The micronucleus frequencies were compared using the variance analysis Kruskal-Wallis. The obtained results indicated that the biomonitoring model adopted was not the ideal for the CEA, considering that the plant suffered the influence of climatic condition. However the plant showed to have accumulative potential for uranium.

Key words: environmental monitoring, genotoxicity, leaf accumulation, micronucleus

Introdução

As fontes emissoras de poluentes podem ser classificadas em móveis e estacionárias. Nas fontes estacionárias são englobadas as atividades industriais, que são importantes fontes geradoras de poluição atmosférica (CETESB 2002). Por isso, a avaliação dos problemas da contaminação do ar teve início nas proximidades das fontes industriais.

Muitos trabalhos já descreveram os efeitos dos poluentes sobre os organismos vivos. Nas plantas, a ação tóxica dos poluentes pode causar desarranjo de organelas e de paredes celulares, quebras cromossômicas e mutações gênicas, efeitos fisiológicos e bioquímicos (Savóia 2007). O conhecimento dos efeitos da contaminação do ar sobre determinadas espécies animais e vegetais,

chamadas bioindicadoras, pode ser utilizado para avaliações quantitativas e qualitativas da contaminação atmosférica (Luiz *et al.* 2005). Tal metodologia tem sido aplicada para muitas finalidades, como por exemplo, para indicação e monitoramento de fontes de emissão, controle da eficiência de medidas tomadas para reduzir emissões, redes de monitoramento, estudos de impacto ambiental e controle da qualidade do ar de ambientes internos e externos, entre outras (Klump 2001).

São diversos os organismos que podem ser usados para indicar uma situação fora dos padrões ambientais de normalidade. Mas, para o biomonitoramento da qualidade do ar, as plantas são muito úteis, já que, muitas espécies são de fácil manuseio, cultivo e cuidados, a custos baixos, além de fornecerem respostas conservativas e de fácil avaliação. Muitas espécies vegetais são usadas em trabalhos de biomonitoramento, cada qual com sua especificidade para reagir a determinados contaminantes (Savóia 2007). Testes com clones de *Tradescantia* (4430,e KU 20), já comprovaram a eficiência deste gênero para avaliar o potencial genotóxico dos poluentes aéreos (Ma *et al.* 1994, Rodrigues *et al.* 1997). Entre os bioensaios propostos para serem desenvolvidos com essa planta está o Trad-MCN, que consiste na estimativa da frequência de micronúcleos, resultantes da quebra cromossômica ou da perda cromossômica anafásica, induzidas por agente genotóxico (Ma 1983).

O bioensaio Trad-MCN com a espécie *T. pallida* tem sido considerado eficiente para biomonitoramento de poluição atmosférica (Batalha *et al.* 1999, Guimarães *et al.* 2000, Suyama *et al.* 2002, Guimarães 2003, Luiz *et al.* 2005, Savóia 2007). Apesar disso, não consegue discriminar quais são os agentes genotóxicos. Assim, as fontes poluidoras devem ser mapeadas e dados climáticos e meteorológicos devem ser coletados.

Alguns organismos ditos acumuladores têm a capacidade de concentrar alguns elementos, principalmente metais pesados (ACIESP 1997). Assim se tornam materiais indicativos da

quantidade do elemento concentrado existente no meio em que vivem. Em estudos recentes, *Tradescantia pallida* tem demonstrado capacidade de acúmulo nas folhas de elementos importantes para o biomonitoramento da poluição aérea, tais como bário, bromo, cálcio, cério, cobalto, cromo, césio, ferro, potássio, lantânio, rubídio, antimônio, escândio, zinco, tório entre outros (Sumita *et al.* 2003, Savóia 2007).

Assim, a proposta deste trabalho é avaliar a viabilidade da utilização da *Tradescantia pallida* em biomonitoramento *in situ* na área de estudo, por meio do bioensaio Trad-MCN, bem como verificar a capacidade de acúmulo foliar desta planta, para os elementos potencialmente emitidos pelos lavadores de gases biomonitorados (fluoreto e o urânio), já que são esses os principais agentes possíveis de serem liberadas no processo de enriquecimento de urânio, caso o lavador de gases não opere com a eficiência esperada.

Material e Métodos

Área de estudo – o trabalho foi desenvolvido numa área de cerca de 800 ha, pertencente ao Centro Experimental Aramar, situado no município de Iperó-SP, (figura 1).

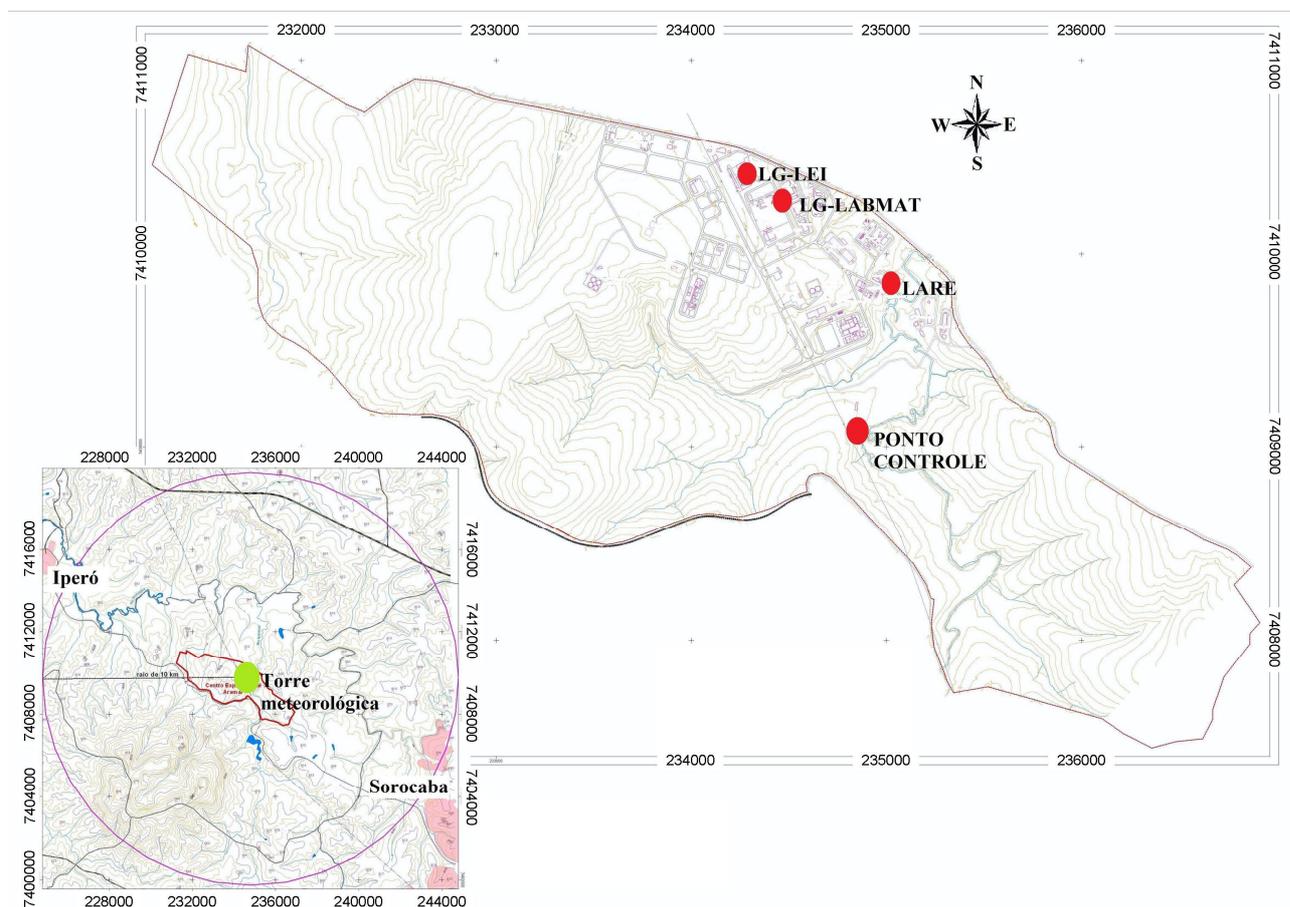


Figura 1: Área de estudo com a localização dos pontos de exposição *in situ*, do ponto controle e da torre meteorológica utilizada na coleta de dados climáticos. LG-LEI. lavador de gases do Laboratório de Enriquecimento Isotópico; LG-LABMAT. lavador de gases do Laboratório de Materiais Nucleares; LARE. Laboratório Radioecológico.

A topografia em torno da área do sítio é caracterizada por altitudes médias entre 550 m e 600 m acima do nível médio do mar. As temperaturas médias mais baixas são observadas durante

os meses de junho e julho, enquanto que as temperaturas médias mais elevadas ocorrem durante os meses de janeiro, fevereiro e março. A amplitude térmica entre os meses de verão e de inverno oscila em torno de $6,7^{\circ}\text{C}$ na temperatura média mensal e em torno de $18,2^{\circ}\text{C}$ entre as temperaturas máximas e mínimas médias. Os valores médios mensais da pressão atmosférica ao nível da Estação Meteorológica do CEA variam de 947 mbar a 952 mbar. As pressões médias mais intensas se verificam no inverno, durante os meses de junho a agosto, devido à passagem, em maior número e intensidade, de centros anticiclônicos de alta pressão. As pressões médias mais baixas ocorrem durante os meses de dezembro a março, quando a região sofre maior influência de situações locais como radiação solar e formações convectivas, do que em relação à presença e atuação dos centros de alta pressão. A variação diária da pressão é da ordem de 3,0 mbar. A umidade relativa ao longo do ano apresenta duas situações distintas: o período de inverno, mais seco, e o período de verão, mais úmido. O valor médio anual no período se concentra em torno de 70 %, sendo que o mês mais úmido apresenta umidade em torno de 78 %, e o mês mais seco em torno de 66 %. Os maiores índices pluviométricos ocorrem durante os meses de primavera e verão devido à maior atividade convectiva e pela passagem de linhas de instabilidade, aliadas a sistemas frontais, enquanto que no outono e inverno, os índices pluviométricos diminuem acentuadamente, uma vez que a precipitação ocorre quando da passagem dos sistemas frontais, ou então, de pequenas células de atividade convectiva localizadas. Dados coletados pela Torre Meteorológica do CEA (figura 1) mostram que a direção dos ventos, a 10 m de altitude, é predominantemente sul-sudeste (SSE) e as maiores velocidades dos ventos são verificadas nessa mesma direção (figura 4). Segundo o gráfico de coeficiente de dispersão atmosférica, é nesse mesmo sentido que a pluma será conduzida, caso haja liberação de contaminantes na atmosférica (figura 5) (CTMSP 1997).

Espécie estudada - O estudo baseou-se em exposições *in situ* de *Tradescantia pallida* (Rose) D.R. Hunt. cv. Purpurea Boom, Commelinaceae (figura 2). A espécie empregada, também conhecida como coração roxo ou setcresea ou trapoeraba, é uma planta muito utilizada em paisagismo, bastante resistente, de fácil cultivo e propagação e muito bem adaptada ao clima local, florescendo durante todo o ano.



Fonte: <http://marche.exblog.jp>

Figura 2. Planta *Tradescantia pallida* cv. Purpurea, conhecida popularmente como coração-roxo.

Fontes potencialmente poluidoras - As fontes estacionárias de emissões atmosféricas do CEA consideradas neste trabalho foram: dois lavadores de gases (LG) localizados, respectivamente, no Laboratório de Enriquecimento Isotópico (LEI) e no Laboratório de Materiais Nucleares (LABMAT) (figuras 3A e 3B) e emissões provenientes do sistema de exaustão dos laboratórios de análises químicas e radiométricas ambientais, Laboratório Radioecológico (LARE).

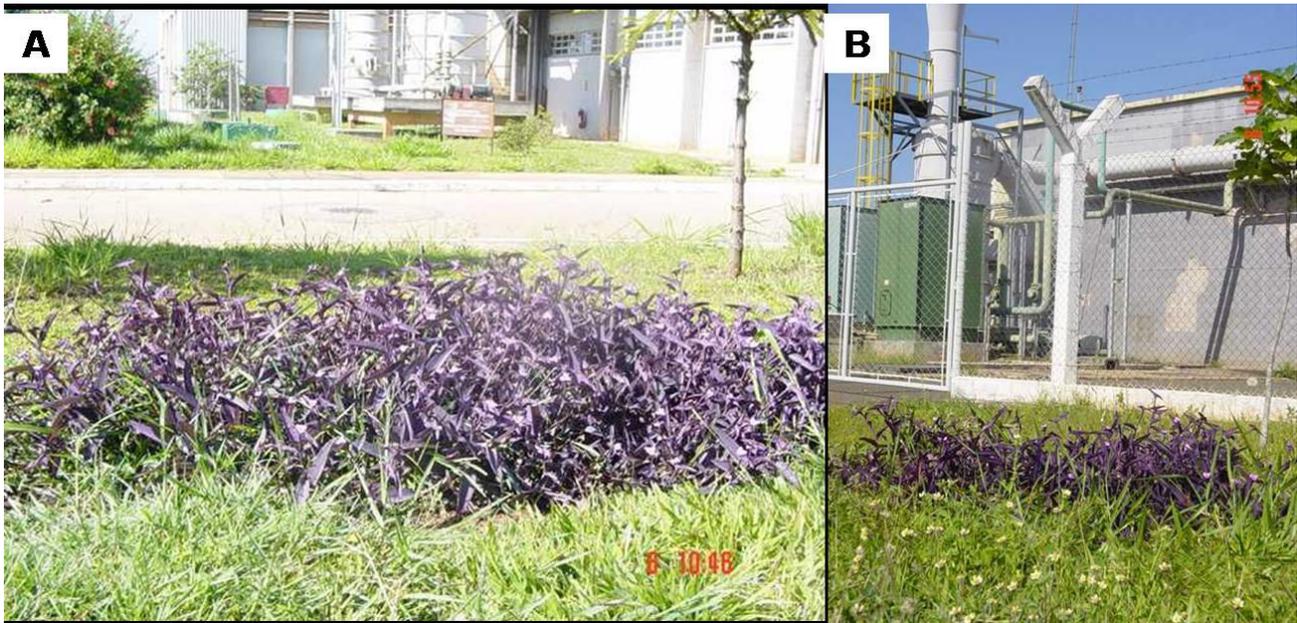


Figura 3. A. canteiro para exposição *in situ* localizado próximo ao lavador de gases (LG) do LEI (Laboratório de Enriquecimento Isotópico); B. canteiro localizado próximo ao lavador de gases (LG) do LABMAT (Laboratório de Materiais Nucleares).

Os lavadores de gases são sistemas de tratamento de emissões gasosas contínuas provenientes dos laboratórios de enriquecimento de urânio, cujos gases críticos resultantes do processo são fluoretos (F^-), ácido fluorídrico (HF) e amônia (NH_3).

Locais de exposição da planta – Os locais de exposição das plantas (ponto controle, LG-LEI, LG-LABMAT e LARE) foram estabelecidos com base em alguns fatores climáticos que interferem na dispersão dos poluentes, tais como: distância das fontes emissoras, direção e velocidade do vento, coeficiente de dispersão atmosférica e da topografia, já descritos na caracterização da área de estudo (figuras 1, 4 e 5). Para o monitoramento dos lavadores de gases foram construídos canteiros a uma distância de cerca de 20 metros dessas fontes. O monitoramento no LARE foi feito com plantas

envasadas, dispostas ao redor do prédio, já que neste local não tinha área disponível para a construção de canteiro.

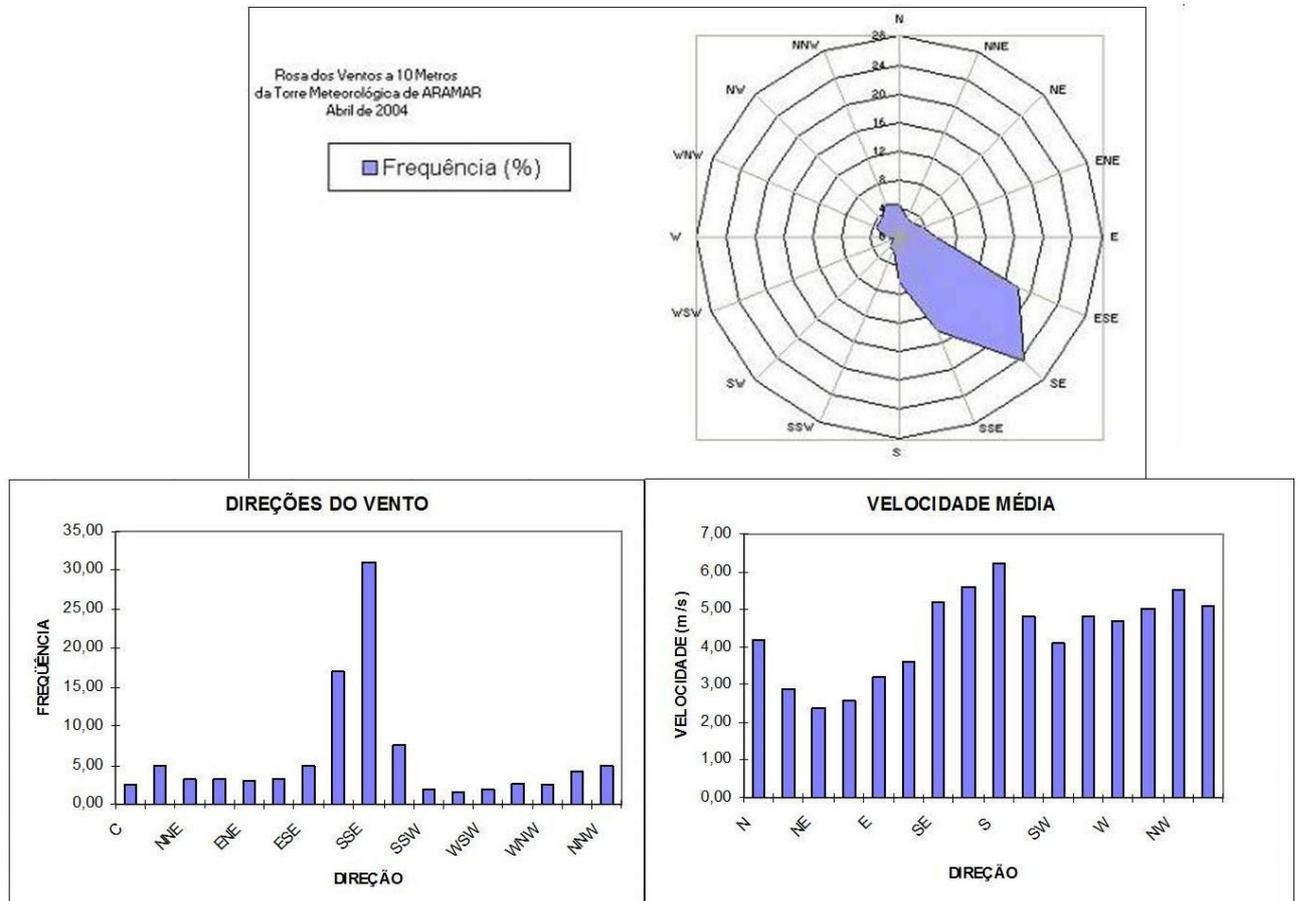


Figura 4. Direção e velocidade dos ventos predominantes na área de estudo.

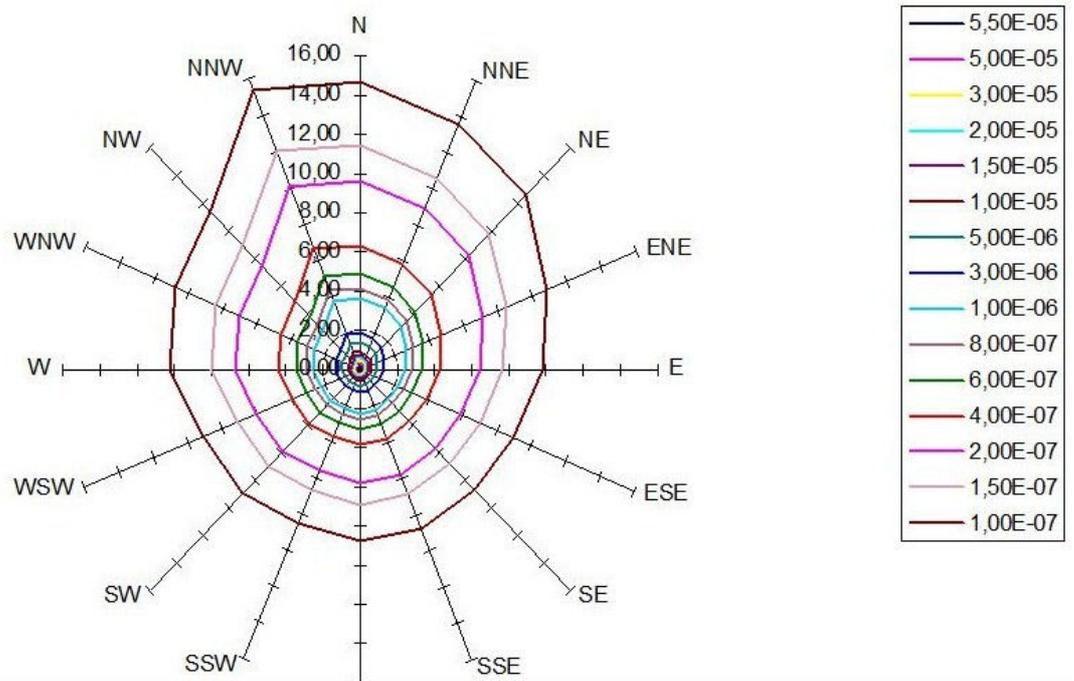
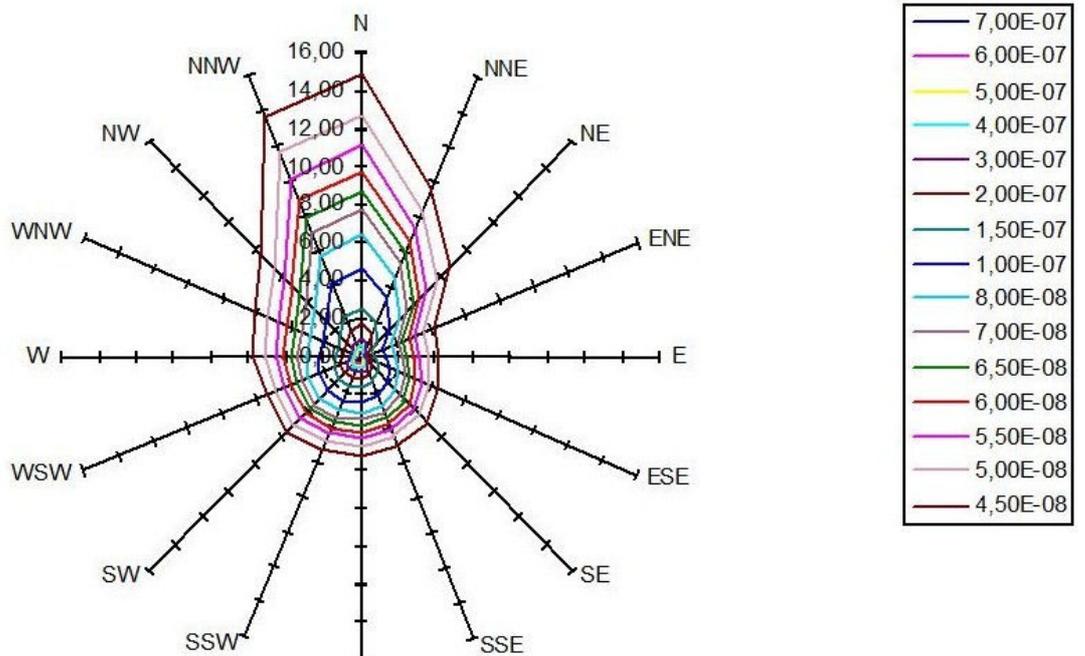
A**B**

Figura 5. Coeficiente de dispersão atmosférica para os gases críticos da área de estudo. A. ao nível do solo; B. ao nível de 75 metros.

Cultivo e exposição das plantas - Uma população de 1500 plantas foi cultivada em canteiro com substrato constituído de solo fértil e matéria orgânica, na proporção de 1;1, recebendo mensalmente

rega com solução nutritiva NPK 10:10:10 e rega semanal com (figura 6A). Esse canteiro inicial representou também o ponto controle. Posteriormente, mudas dessas plantas foram distribuídas em dois canteiros padronizados, com cerca de 200 mudas em cada um, construídos nos locais de exposição (LG-LEI e LG-LABMAT) (figura 3). Além dos canteiros, 400 mudas da planta foram transferidas para 20 floreiras (que foram dispostas ao redor do LARE) com substrato constituído de solo fértil e matéria orgânica, que receberam o mesmo tratamento dos canteiros (figura 6B).



Figura 6. A. canteiro localizado no ponto controle; B. floreira disposta no Laboratório Radioecológico (LARE).

Coleta e fixação das inflorescências – Nas floreiras dispostas ao redor do LARE, nos canteiros próximos aos lavadores de gases e no ponto controle, foram coletadas mensalmente, no período de setembro de 2003 a agosto de 2004, 15 a 20 inflorescências jovens (com todos os botões fechados) (figura 7). A fixação das inflorescências foi feita imediatamente após a coleta, em solução de ácido acético glacial e etanol 95% 1:3, por 24 horas. Posteriormente o material foi conservado em etanol a 95%, em frasco identificado.



Figura 7. Inflorescência jovem de *Tradescantia pallida*.

Durante o período de amostragem foram coletados dados de temperatura máxima, média e mínima, umidade relativa do ar e precipitação pluviométrica, obtidos a partir de uma torre meteorológica localizada no Centro Experimental Aramar.

Contagem de micronúcleos - Para a preparação das lâminas para contagem dos micronúcleos foi empregado o protocolo estabelecido por Ma (1983) para os clones híbridos de *Tradescantia*, descrito detalhadamente no capítulo 1.

Análise de acúmulo foliar - A análise do acúmulo foliar foi realizada em amostras compostas por folhas provenientes dos canteiros padronizados, instalados próximos aos lavadores de gases. Após o período de um ano de exposição *in situ*, todas as folhas disponíveis nos canteiros foram coletadas e compuseram uma amostra mista na qual se analisou a concentração de fluoreto e urânio. Como salientado anteriormente, são essas as principais substâncias possíveis de serem

liberadas no processo de enriquecimento de urânio, caso o lavador de gases não opere com a eficiência esperada.

Determinação de fluoreto - O fluoreto foi determinado por potenciometria com eletrodo íon-seletivo, método utilizado para determinação de fluoreto em vegetação (Lodge Jr. 1989), como descrito a seguir.

Preparação prévia da amostra: cerca de 100 g de folhas picadas foram secas em estufa com circulação forçada a 80-100°C, por no mínimo 24 horas. O material seco foi picado em multiprocessador e armazenado em frasco plástico.

Análise: 0,5 g do material seco armazenado foi pesado em balança analítica e depositado em frasco plástico de boca larga de 50 mL. Em seguida pipetou-se 25 mL de ácido perclórico 0,1 N e tampou-se o frasco. A solução foi agitada em placa agitadora com barra magnética por 20 minutos e posteriormente colocada em repouso por quatro horas à temperatura ambiente. Após este tempo, pipetou-se outros 25 mL de ácido perclórico 0,1 N buscando com isso limpar as paredes do frasco. A determinação da concentração de fluoreto foi feita com eletrodo íon-seletivo sem a necessidade de retirar o material vegetal presente no frasco. O aparelho foi previamente calibrado com dois padrões de 0,10 e 1,00 mg L⁻¹ de F obtendo-se leitura em mg L⁻¹.

Determinação de urânio - O restante das folhas secas foi transformado em por meio de calcinação e foi enviado ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN), onde se determinou a concentração de urânio empregando-se o método de análise por ativação com nêutrons (AAN) (Saiki *et al.* 2003, Sumita *et al.* 2004). Tal análise foi realizada pela pesquisadora Dra. Mitiko Saiki.

A análise por ativação com nêutrons (AAN) é um método de grande precisão e confiabilidade, capaz de determinar concentrações de elementos químicos na ordem de partes por bilhão (ppb) ou menores. É baseada na medida da radiação gama induzida na amostra pela irradiação com nêutrons. Quando um nêutron interage com um núcleo alvo por meio de uma colisão inelástica, forma-se um núcleo composto em um estado altamente excitado. Este núcleo pode perder sua energia por vários processos de desintegração, que duram intervalos da ordem de 10^{-16} a 10^{-14} s. Esses processos normalmente envolvem emissão de partículas, ou os chamados raios gama prontos, na maioria dos casos, o novo núcleo formado é radioativo e irá decair, emitindo raios gama. O método consiste na medida dos raios gama característicos para identificação do elemento urânio e determinação de seu teor (FCFUSP 2008).

Análise estatística - Todos os dados foram submetidos a análises estatísticas, utilizando o programa de estatística BioEstat versão 2.0. Para identificar as variações significativas de cada local de exposição, comparados com o ponto controle e a variação ao longo dos meses, foi usada a análise de variância Kruskal-Wallis.

Resultados e Discussão

Condições ambientais durante o período de amostragem – Os dados climáticos coletados durante o período de amostragem estão apresentados na tabela 1.

As condições climáticas verificadas durante o período de amostragens foram típicas da região da área de estudo. A umidade relativa variou entre 17 e 97 %. Os valores de temperatura - máxima, mínima e média - foram de 35 °C, 4 °C e 19 °C (média das médias), respectivamente. A temperatura mais elevada foi observada no mês de setembro de 2003, chegando a atingir 35 °C. No

inverno, as menores temperaturas foram observadas nos meses de junho e agosto de 2004, com valores de 4 °C. Os menores índices de precipitação pluviométrica foram observados nos meses de setembro de 2003, junho, julho e agosto de 2004, com valores de 34, 33, 26 e 3 mm, respectivamente. Os meses de novembro e dezembro de 2003 e janeiro, fevereiro e maio de 2004 foram os mais chuvosos, com precipitações de 154, 103, 350, 112 e 113 mm, respectivamente.

Tabela 1. Valores máximos, mínimos e médios mensais de temperatura e umidade relativa do ar e valor total mensal de precipitação pluviométrica.

Data de Amostragem	Temperatura (°C)			Umidade relativa do ar (%)			Precipitação pluviométrica (mm)
	Máxima	Mínima	Média	Máxima	Mínima	Média	
Setembro/2003	35	7	19	96	18	68	34
Outubro/2003	34	7	11	97	17	59	94
Novembro/2003	34	11	21	94	17	71	154
Dezembro/2003	34	16	23	97	36	75	103
Janeiro/2004	32	15	22	96	36	77	350
Fevereiro/2004	32	15	22	94	32	72	112
Março/2004	32	12	21	94	34	74	85
Abril/2004	30	10	21	94	30	76	94
Maio/2004	30	6	17	95	35	78	113
Junho/2004	26	4	15	96	31	78	33
Julho/2004	27	6	16	97	35	78	26
Agosto/2004	30	4	17	96	18	69	3

Também foram anotados valores de temperatura (máxima, mínima e média diária), umidade relativa do ar média diária e precipitação pluviométrica total diária para os dias que antecederam a data de coleta das inflorescências, começando a partir do sexto dia de antecedência. Esse período

foi escolhido com base em outros estudos de biomonitoramento realizados pelo grupo no qual este projeto está inserido (M. Domingos – comunicação pessoal). Os dados são apresentados na tabela 2.

Tabela 2. Dados climáticos diários obtidos a partir do sexto dia que antecedeu as datas das coletas de inflorescências.

Mês de coleta	Dias antecedentes	Temperatura (°C)			Umidade relativa do ar (%)	Precipitação pluviométrica (mm)
		Máxima	Mínima	Média		
Setembro/2003	6	17	12	14	77	0,2
	5	15	11	13	74	0
	4	21	10	15	73	0
	3	21	11	15	77	0,8
	2	25	7	16	71	0
	1	23	11	16	71	0
	coleta	24	10	16	66	0
Outubro/2003	6	23	17	20	76	0
	5	31	16	22	68	0
	4	32	16	24	61	0
	3	33	18	26	51	0
	2	24	19	20	87	18.2
	1	20	17	18	87	6.4
	coleta	27	16	20	80	34.8
Janeiro/2004	6	29	18	23	76	0
	5	31	20	24	74	0
	4	28	19	23	73	0
	3	27	17	21	66	0
	2	27	17	21	61	0
	1	29	15	21	65	0
	coleta	28	18	22	68	0
Fevereiro/2004	6	24	20	22	87	5,6
	5	29	20	24	80	0.4
	4	32	18	23	78	41,7
	3	30	19	23	75	0,5
	2	30	19	24	70	0
	1	31	19	24	70	0
	coleta	30	20	24	73	0
Março/2004	6	24	18	21	76	0.0
	5	22	18	20	80	3.6
	4	27	16	22	72	0.0
	3	28	15	21	75	7.9
	2	28	16	22	70	0.8
	1	30	15	22	74	0.0
	coleta	30	17	23	69	0.0

Tabela 2 (continuação).

Mês de coleta	Dias antecedentes	Temperatura (°C)			Umidade relativa do ar (%)	Precipitação pluviométrica (mm)
		Máxima	Mínima	Média		
Abril/2004	6	27	15	20	72	0.0
	5	28	15	21	70	0.0
	4	29	13	21	71	0.3
	3	30	15	22	69	0.0
	2	25	20	22	82	3.6
	1 coleta	28	17	22	77	0.3
		28	18	22	81	13.0
Junho/2004	6	17	9	14	74	1.5
	5	18	6	11	77	0.3
	4	19	9	13	73	0.0
	3	23	10	16	72	0.0
	2	25	13	17	82	25.4
	1 coleta	19	13	15	88	7.6
		23	12	17	78	0.5
Julho/2004	6	26	14	19	78	0
	5	26	12	18	78	0
	4	26	12	18	79	0
	3	26	11	17	81	0
	2	27	10	17	78	0
	1 coleta	26	12	18	78	0
		22	13	18	86	0
Agosto/2004	6	25	15	19	72	0
	5	30	11	19	71	0
	4	25	13	18	77	0
	3	20	15	18	79	0
	2	21	15	18	87	3,0
	1 coleta	26	13	19	66	0
		28	8	18	60	0

De acordo com CETESB (2006), informações meteorológicas e climatológicas devem ser consideradas nos estudos da poluição atmosférica, uma vez que esses fatores são de grande importância para a dispersão dos poluentes e por isso sempre devem ser considerados em estudos ambientais. Além disso, dados relativos ao clima do local podem fornecer explicações a respeito do comportamento das plantas.

Bioensaio Trad-MCN - A tabela 3 mostra a frequência mensal de micronúcleos em inflorescências de *Tradescantia pallida* e os respectivos desvios-padrão em cada local de exposição. A figura 8 apresenta a comparação entre as medianas das frequências de micronúcleos, obtidas ao longo do período de estudo, nos locais de exposição e no ponto controle.

Nos meses de setembro e outubro de 2003 e agosto de 2004, não foi verificada diferença significativa ($P > 0,05$) entre os locais de exposição, inclusive o ponto controle. Nos meses de janeiro e fevereiro de 2004 foi observada diferença significativa entre o ponto controle e os locais de exposição ($P < 0,05$), que não diferiram entre si. No mês de março de 2004, somente as inflorescências cultivadas no canteiro do LG-LEI apresentaram frequência média de MCN significativamente menor que o ponto controle e os demais locais de exposição. No mês de abril de 2004, as plantas coletadas nos canteiros do LG-LEI e do LG-LABMAT apresentaram resultados significativamente menores que as plantas cultivadas no ponto controle e nas floreiras dispostas no LARE. No mês de junho de 2004 não houve coleta nos canteiros do LG-LEI e do LG-LABMAT devido à ausência de inflorescências na idade apropriada para o teste de micronúcleo e a frequência média de micronúcleo verificada nas plantas do LARE foi significativamente menor que nas plantas do ponto controle. No mês de julho de 2004, as plantas expostas no canteiro do LG-LABMAT apresentaram frequência de micronúcleos significativamente inferiores a dos demais locais. As variações verificadas nas frequências de micronúcleos obtidas em inflorescências de *T. pallida* não apresentaram nenhum padrão que pudesse caracterizar os diferentes locais de exposição. Segundo Ma (1983), isso acontece devido ao fato de que o teste de micronúcleo com *Tradescantia* tem um caráter generalista de indicação de riscos genotóxicos.

Tabela 3. Comparação entre as frequências médias de micronúcleos (%) obtidas para cada local de exposição, ao longo do período de estudo.

Data da coleta	Locais de exposição			
	Controle	LARE	LG-LEI	LG-LABMAT
Setembro/2003	4,73 ± 1,50 ^a	3,58 ± 2,61 ^a	5,29 ± 3,92 ^a	3,02 ± 2,32 ^a
Outubro/2003	0,23 ± 0,28 ^a	*	0,37 ± 0,38 ^a	0,30 ± 0,31 ^a
Janeiro/2004	1,27 ± 1,54 ^a	0,26 ± 0,27 ^b	0,26 ± 0,27 ^b	0,15 ± 0,16 ^b
Fevereiro/2004	3,53 ± 1,29 ^a	5,51 ± 2,03 ^b	5,66 ± 1,31 ^b	6,80 ± 0,58 ^b
Março/2004	5,87 ± 1,50 ^a	5,20 ± 2,23 ^a	0,90 ± 0,69 ^b	5,50 ± 3,37 ^a
Abril/2004	5,43 ± 1,81 ^a	9,65 ± 4,13 ^a	0,16 ± 0,24 ^b	0,82 ± 1,53 ^b
Junho/2004	5,06 ± 1,35 ^a	2,10 ± 0,99 ^b	*	*
Julho/2004	5,87 ± 2,36 ^a	6,70 ± 2,33 ^a	6,53 ± 1,49 ^a	3,30 ± 0,00 ^b
Agosto/2004	5,30 ± 1,82 ^a	4,67 ± 1,25 ^a	7,36 ± 4,17 ^a	6,01 ± 1,76 ^a

As médias de cada local de exposição, indicadas com letras distintas, diferem entre si significativamente, no respectivo mês, com $P < 0,05$ pela análise de variância Kruskal-Wallis. Nos meses ausentes na tabela não houve coleta. * Não houve coleta neste local no respectivo mês. LARE. Laboratório Radioecológico; LG-LEI. lavador de gases do Laboratório de Enriquecimento Isotópico; LG-LABMAT. lavador de gases do Laboratório de Materiais Nucleares.

Cabe destacar que as inflorescências coletadas no ponto controle, em alguns períodos, apresentaram maior frequência de micronúcleos do que aquelas coletadas nos ambientes testados. Tal fato ocorreu nos meses de janeiro, março e junho de 2004. Considerando que o ponto controle é seguramente muito pouco atingido pelos contaminantes potencialmente presentes nas proximidades dos laboratórios testados, a maior frequência de micronúcleos deve ser atribuída a outros fatores, possivelmente fatores climáticos, ou mesmo a fatores intrínsecos das plantas. Klumpp *et al.* (2001)

salientam que os fatores climáticos podem interferir na absorção de poluentes pela planta, o que confirma a importância dos mesmos nas respostas dos vegetais frente a ambiente. Savóia (2007) informa que os fatores climáticos podem ser considerados fatores de confusão e quando se pretende delimitar sua influência na resposta bioindicadora, estes devem ser minimizados ao máximo. No presente trabalho buscou-se minimizar a variação entre os canteiros, uma vez que se utilizou o mesmo substrato, a disponibilidade hídrica por meio de regas realizadas nos mesmos dias e os cuidados nutricionais, adubando-se as plantas nos mesmos períodos; porém, por se tratar de condições de campo, outros fatores, como intensidade luminosa, temperatura, vento não puderam ser controlados, o que mostra que experimentos em condições controladas como aqueles descritos no capítulo 1 podem ser mais efetivos no estabelecimento da genotoxicidade dos agentes testados empregando-se o Trad-MCN.

Com relação à variação sazonal das frequências de micronúcleos para cada local de exposição, as menores frequências em todos os locais (ponto controle, LARE, LG-LEI e LG-LABMAT) foram observadas nos meses de outubro de 2003 e janeiro de 2004 (tabela 3).

Em outubro de 2003, a temperatura média mensal foi de 11 °C, porém nos dias que antecederam a coleta de inflorescências houve um aumento na temperatura, chegando a 33 °C, três dias antes da coleta. No dia da amostragem a temperatura máxima foi de 27 °C e a média do dia foi de 20 °C. A semana da coleta também apresentou alto índice de precipitação pluviométrica, com valores de 18,2 e 6,4 mm de chuva a partir dos dois dias que antecederam a coleta e 34,8 mm de chuva no dia. Como consequência da precipitação pluviométrica, a umidade relativa do ar também apresentou elevação, atingindo 87 % dois dias antes da coleta e 80 % no dia da amostragem.

Em janeiro, que é um mês bastante quente e chuvoso, a temperatura média mensal foi de 22°C, chegando a 31 °C a cinco dias da coleta e 28 °C no dia da coleta. A precipitação pluviométrica mensal foi de 350 mm. Apesar grande quantidade de chuva ocorrida em todo o mês,

na semana da coleta não choveu. Porém a umidade relativa do ar permaneceu elevada, chegando a 76 % a seis dias da coleta e 68 % no dia da coleta (tabelas 1 e 2 e figura 8).

Na maioria dos demais meses de coleta, as frequências de micronúcleos foram significativamente mais altas em todos os locais de exposição. Porém, nos meses de março de 2004 no ponto LG-LEI e em abril de 2004 nesse mesmo ponto e no ponto LG-LABMAT, as frequências de micronúcleos foram baixas, inferiores a 1,0 %, como se deu em outubro de 2003 e janeiro de 2004 (tabela 3). Esses meses também apresentaram temperatura média elevada, bem como ocorrência de chuva, mantendo a umidade relativa do ar média em torno de 75%.

Os valores de frequência de micronúcleos obtidos tanto no ponto controle, como nos locais de exposição, apesar de não indicarem um padrão de variação, foram, na sua maioria, superiores aos observados em exposições *in situ* de *T. pallida* em locais poluídos, descritos em trabalhos realizados com a mesma planta, como os de Guimarães (2003), Luiz *et al.* (2005), Silva (2005) e Savóia (2007). Esse resultado pode indicar existência de fatores de estresses ambientais na área de estudo, capazes de induzir a formação de micronúcleo e também pode indicar que o cultivo das plantas e procedimento de exposição foram inadequados.

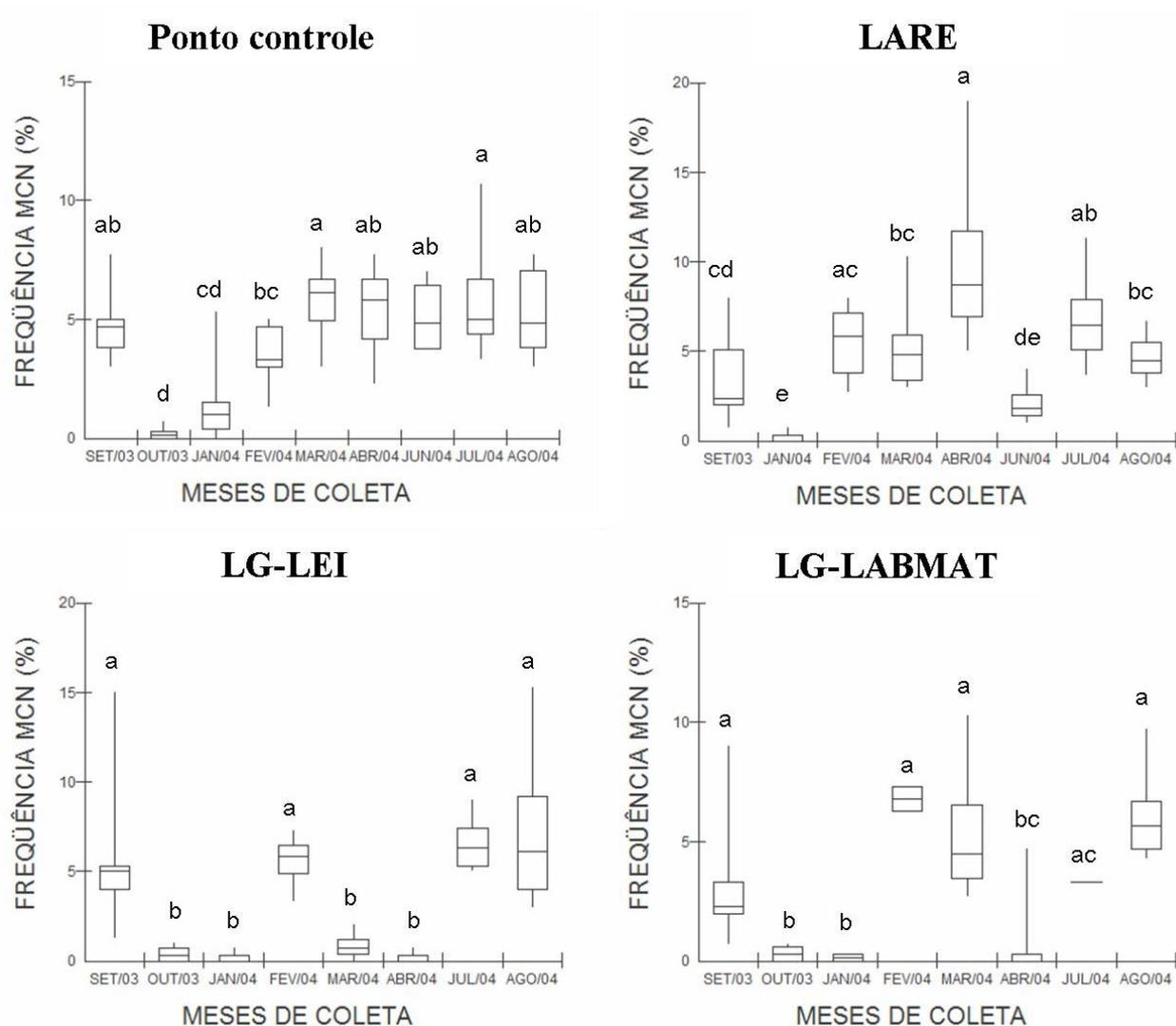


Figura 8. Comparação da freqüência de MCN ao longo do período de estudo, nos locais de exposição e no ponto controle. Os meses indicados com letras diferentes em cada local de exposição diferem entre si significativamente ($P < 0,05$). A. ponto controle; B. LARE – Laboratório Radioecológico; C. LG-LEI – lavador de gases do Laboratório de Enriquecimento Isotópico; D. LG-LABMAT – lavador de gases do Laboratório de Materiais Nucleares.

Pelo fato dos bioindicadores interagirem com diferentes fatores abióticos e não somente com os contaminantes existentes na atmosfera, seu uso não é capaz de substituir os métodos convencionais de monitoramento da qualidade do ar. Porém, são ferramentas úteis para o

conhecimento dos efeitos danosos do ambiente como um todo (Arndt & Schweizer 1991, Klumpp *et al.* 2001, Savóia 2007).

As variações das frequências de micronúcleos observadas em cada local de exposição, sinaliza para a necessidade de estudos mais aprofundados para padronizar os métodos de cultivo e exposição, a fim de minimizar a influência dos fatores abióticos nas respostas das plantas como discutido por Klumpp *et al.* (2001).

Análise de acúmulo foliar – As concentrações médias de fluoreto e urânio nas folhas de *T. pallida* amostradas nos locais de exposição *in situ* ao final do período de amostragem são apresentadas na figura 9. Embora esses elementos sejam considerados tóxicos para algumas plantas, no presente estudo, nas concentrações encontradas, provavelmente não foram agentes indutores de micronúcleos nas plantas de *T. pallida* analisadas. Segundo Savóia (2007), a planta pode ter mecanismos de tolerância capazes de diminuir a toxicidade desses elementos. Assim, a ocorrência de danos nos cromossomos pode acontecer somente a partir de um certo nível de acúmulo, provavelmente acima do nível observado neste estudo.

O acúmulo de fluoreto, de maneira geral, foi bem maior do que o acúmulo de urânio, porém, as concentrações verificadas são baixas, quando comparadas com as obtidas em estudos com plantas acumuladoras deste elemento, tais como *Lolium multiflorum*, *Psidium guajava* e *Tibouchina pulchra* (Klumpp *et al.* 1996, Domingos *et al.* 2003, Furlan *et al.* 2007).

As concentrações médias de urânio presentes em *T. pallida* proporcionaram um mapeamento espacial da ocorrência desse elemento na área de estudo. As concentrações verificadas no ponto controle foram menores que as verificadas nos pontos LG-LEI e LG-LABMAT, onde ocorrem fases do processo de enriquecimento de urânio. No LARE não foi observada variação significativa em relação ao controle, o que se justifica, uma vez que nesse local não há atividades relacionadas ao processo de enriquecimento de urânio.

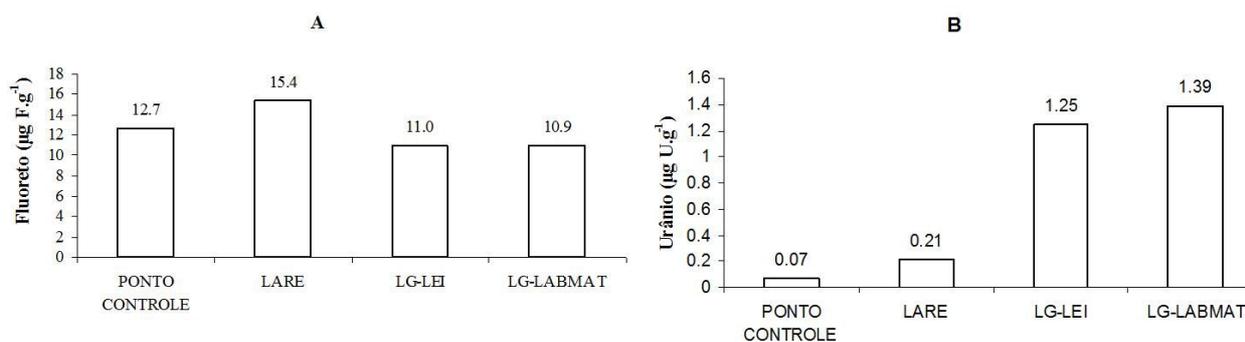


Figura 9. Concentrações médias de fluoreto e urânio obtidas em amostras de folhas de *Tradescantia pallida* dos locais de exposição *in situ*. A. concentração de fluoreto ($\mu\text{g F g}^{-1}$); B. concentração de urânio ($\mu\text{g U g}^{-1}$).

Conclusões

Os resultados do bioensaio Trad-MCN com *Tradescantia pallida* mostraram uma irregularidade na frequência de micronúcleos verificados nos grupos de inflorescências coletadas nos locais de exposição ao longo do período de estudo, fornecendo resultados confusos, que possivelmente foram influenciados pelas condições climáticas do local. Assim, o biomonitoramento *in situ* realizado neste trabalho mostrou-se ineficiente para avaliação do potencial genotóxico dos contaminantes potencialmente emitidos pelas fontes presentes no CEA. Dessa forma, o biomonitoramento *in situ* com *Tradescantia pallida*, por meio do bioensaio Trad-MCN deve ser aperfeiçoado, padronizando e controlando as condições de cultivo, para que seja uma ferramenta auxiliar eficaz para o controle ambiental.

Embora o Trad-MCN não tenha se mostrado eficiente para ser usado como atividade de rotina no biomonitoramento *in situ* no CEA, a planta *Tradescantia pallida* mostrou seu potencial acumulador para os elementos analisados. Em relação ao urânio, foi possível mapear a presença

desse elemento que se mostrou em concentrações muito baixas no ponto controle e maiores nos laboratórios onde o mesmo é processado.

Literatura citada

ACIESP. 1997. Academia de Ciências do Estado de São Paulo. 1997. Glossário de ecologia. 2ª edição. ACIESP, São Paulo.

Arndt, U. & Schweizer, B. 1991. The use of bioindicators for environmental monitoring in tropical and subtropical countries. *In*: H. Ellenberg, U. Arndt, B. Bretthauer, B. Ruthsatz & L. Steubing (eds.). Biological Monitoring: signals from the environmental. Vieweg & Sons, Eschborn, pp. 199-260.

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 *Tradescantia* micronuclei assay. Mutation Research 426: 229-232.

CETESB. 2002. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. 2002. Relatório da qualidade do ar no Estado de São Paulo: série relatórios 2002. CETESB, São Paulo.

CETESB. 2006. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. 2006. Relatório da qualidade do ar no Estado de São Paulo: série relatórios 2006. CETESB, São Paulo.

CTMSP. 1997. Centro Tecnológico da Marinha em São Paulo. 1997. Plano de Monitoração Ambiental do Centro Experimental ARAMAR. CTMSP, São Paulo.

Domingos, M., Klumpp, A., Rinaldi, M.C.S., Modesto, I.F., Klumpp, G. & Delitti, W.B.C. 2003. Combined effects of air and soil pollution by fluoride emissions on *Tibouchina pulchra* Cogn., at Cubatão, SE Brazil, and their relations with aluminium. Plant and Soil 249: 297-308.

- FCFUSP.** 2008. Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. 2008. Metodologia e aplicações de radioisótopos: análise por ativação neutrônica. FCFUSP. <http://www.fcf.usp.br/Ensino/Graduacao/Disciplinas/LinkAula/My-Files/AAN.htm> (acesso em 11.03.2008).
- Furlan, C.M., Domingos, M. & Salatino, A.** 2007. Effects of initial climatic conditions on growth and accumulation of fluoride and nitrogen in leaves of two tropical tree species exposed to industrial air pollution. *Science of The Total Environment* 374: 399-407.
- Guimarães, E.T.** 2003. Poluição atmosférica na cidade de São Paulo e mutagênese: avaliação de riscos utilizando bioindicadores vegetais do gênero *Tradescantia*. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- 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 genotoxicity 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.
- Klumpp, A., Domingos, M. & Klumpp, G.** 1996. Assessment of the vegetation risk by fluoride emissions from fertiliser industries at Cubatão, Brazil. *Science of The Total Environment* 192: 219-228.
- Klumpp, A.** 2001. Utilização de bioindicadores de poluição em condições temperadas e tropicais. *In:* N.B. Maia, H.L. Martos & W. Barrela (orgs.). *Indicadores ambientais: conceitos e aplicações*. EDUC- Editora da PUC, São Paulo, pp. 77-94.
- Klumpp, A., Ansel, W., Klumpp, G. & Fomin, A.** 2001. Um novo conceito de monitoramento e comunicação ambiental: a rede europeia para a avaliação da qualidade do ar usando plantas bioindicadoras. (EuroBionet). *Revista Brasileira de Botânica* 24 (4): 511-518.

- Lodge Jr., J.P.** 1989. Methods of air sampling and analysis. Lewis Publishers, Inc. 3^a edition, p. 316-323.
- Luiz, E.J., Lavendowski, I.M.F., Oliveira, G.P., Guimarães, E.T., Domingos, M. & Saldiva, P.H.N.** 2005. Biomonitoramento da qualidade do ar em Santo André. Serviço Municipal de Saneamento Ambiental de Santo André (SEMASA), Santo André.
- Ma, T.H.** 1983. *Tradescantia*-micronucleus Trad-MCN test for environmental clastogens. In: A.R. Kolber, T.K. Wong, L.D. Grant, R.S. DeWoskin, T.J. Hughes (eds.). *In vitro toxicity testing of environmental agents*. Part A, Plenum, New York, pp. 191-214.
- Ma, T.H., Cabrera, G.L., Gill, B.S., Sandhu, S.S., Vanderbeg, A.L. & Salamone, M.F.** 1994. *Tradescantia* micronucleus assay. *Mutation Research* 310: 221-230.
- Rodrigues, G.S., Ma, T.S., Pimentel, D. & Weinstein, L.H.** 1997. *Tradescantia* bioassays as monitoring systems for environmental mutagenesis. A review. *Critical reviews in Plant Sciences* 16: 325-359.
- Saiki, M., Alves, E.R., Sumita, N.M. & Saldiva, P.H.N.** 2003. INAA applied to *Tradescantia pallida* plant study for environmental pollution monitoring. *Czechoslovak Journal of Physics* 53: A189-A193.
- Savóia, E.J.L** 2007. Potencial de *Tradescantia pallida* cv. Purpurea para biomonitoramento da poluição aérea de Santo André – São Paulo, por meio do bioensaio Trad-MCN e do acúmulo foliar de elementos tóxicos. Dissertação de mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Silva, J.S.** 2005. Efeitos genotóxicos em tétrades de *Tradescantia pallida* (Rose) D. R. Hunt var. *purpurea* induzidos por poluentes atmosféricos na cidade de Salvador-BA. Monografia, Universidade Federal de Feira de Santana, Feira de Santana-BA.
- Sumita, N.M., Mendes, M.E., Macchione, M., Guimarães, E.T., Lichtenfels, A.J.C.F., Lobo, D.J.A., Saldiva, P.H.N. & Saiki, M.** 2003. *Tradescantia pallida* cv. purpurea Boom in the

characterization of air pollution by accumulation of trace elements. *Journal Air & Waste Manage Assoc.* 53: 574-579.

Sumita, N.M., Saiki, M., Saldiva, P.H.N., Figueiredo, A.M. G. 2004. Analysis of *Tradescatia pallida* plant exposed in different sites for biomonitoring purposes. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 259: 109-112

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* var. *Purpurea* are equally sensitive to the clastogenic effects of X-rays. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 35: 127-129.

DISCUSSÃO GERAL

Os mecanismos que levam à formação de micronúcleos envolvem tanto quebras cromossômicas (clastogênese), quanto perdas anafásicas (aneugênese), de modo que o uso do Trad-MCN propicia a detecção da ação de agentes clastogênicos e aneugênicos, sendo, como destacado por Ma *et al.* (1994), confiável para avaliar genotoxicidade de diferentes agentes. O teste, contudo, apresenta limitações por não revelar a ocorrência de rearranjos cromossômicos como translocações e inversões (Ma 1981).

Os resultados dos ensaios laboratoriais realizados no presente estudo demonstraram que o bioensaio Trad-MCN com *Tradescantia pallida* é uma ferramenta eficaz para estudos experimentais em ambiente controlado, uma vez que foi possível detectar o potencial genotóxico de contaminantes gasosos e da radiação ionizante no Centro Experimental Aramar. As exposições realizadas em situações experimentais indicaram que a planta respondeu à genotoxicidade da amônia, do ácido fluorídrico e da radiação ionizante gama, porém as respostas aos efluentes líquidos provenientes dos lavadores de gases não foram tão conclusivas.

As frequências médias de micronúcleos encontradas nos tratamentos tanto com o ácido fluorídrico quanto com amônia foram similares aos resultados obtidos em ensaios com formas líquidas e gasosas de pesticidas (dimetoato, atrazina, simazina e dicamba) descritos por Mohammed & Ma (1999), que indicaram alta genotoxicidade desses compostos.

As baixas taxas de exposição de radiação gama, as quais as inflorescências foram submetidas nesse ensaio, foram suficientes para induzir a formação de micronúcleos em níveis considerados de alta genotoxicidade, apresentando relação dose-resposta significativa. O efeito genotóxico da radiação ionizante também foi reportado por Minouflet *et al.* (2005), que utilizou o bioensaio Trad-MCN para avaliar a genotoxicidade de baixas doses emitidas pelo ^{137}Cs . Neste

experimento, o teste Trad-MCN foi considerado mais sensível que o Trad-SH e o Vicia-MCN para baixas doses de radiação ionizante (Minouflet *et al.* 2005). Segundo Carvalho (2005), a cultivar popular *Tradescantia pallida* é igualmente sensível a baixas doses de radiação quanto o clone 4430 e a resposta a baixos níveis de radiação obtida pelo teste Trad-MCN, raramente é obtida com outros ensaios biológicos.

Diferentemente de alguns estudos recentes, com plantas cultivadas *in situ*, em vasos ou em canteiros no local de estudo (Guimarães 2003, Leal *et al.* 2005, Luiz *et al.* 2005, Silva 2005, Solenská *et al.* 2006, Savóia 2007), o modelo de monitoramento adotado neste trabalho, utilizando o bioensaio Trad-MCN, com a *T. pallida* não se mostrou adequado, indicando que possivelmente fatores abióticos, além da contaminação atmosférica, podem ter interferido nos resultados. As exposições realizadas em campo apresentaram resultados confusos e poucos conclusivos. As variações verificadas nas frequências de micronúcleos obtidas em inflorescências de *T. pallida* não apresentaram nenhum padrão que pudesse caracterizar os diferentes locais de exposição. Segundo Ma (1983), isso acontece devido ao fato de que o teste de micronúcleo com *Tradescantia* tem um caráter generalista de indicação de riscos genotóxicos.

O ponto controle que, em tese, seria o local isento de contaminantes, apresentou em alguns períodos, frequência de micronúcleos, quando não semelhante, até significativamente maior que as dos demais locais de exposição; tal fato somado às diferenças significativas na frequência de micronúcleos observadas entre os locais de exposição levam a crer que alguns fatores tais como: fatores climáticos, diferenças no estágio de desenvolvimento da planta, na exposição da planta ou alguma condição própria do local possam ter influenciado a formação de micronúcleos. Fatores climáticos também podem ter interferido na absorção de poluentes pela planta (Klumpp *et al.* 2001). Como os estudos foram conduzidos em condições de campo, não foi possível controlar as variáveis ambientais e isso dificultou a interpretação dos resultados. Os fatores climáticos podem ser

considerados fatores de confusão e quando se pretende delimitar sua influência na resposta bioindicadora devem ser minimizados ao máximo (Savóia 2007).

Com relação à variação sazonal, respostas semelhantes foram observadas nos meses de outubro de 2003 e janeiro de 2004, quando foram encontradas as menores frequências de micronúcleos em todos os locais de exposição. Os dias que antecederam as coletas nesses meses, apresentaram alto índice pluviométrico, altas temperaturas e altos valores de umidade relativa do ar.

Petric (2001 *apud* Silva 2005), em um estudo realizado na cidade de Salvador-BA, avaliou a frequência de micronúcleos em quatro áreas desta cidade durante um período de estiagem (dezembro, janeiro e fevereiro) e um período chuvoso (julho, agosto e setembro) e também constatou menores frequências no período chuvoso, com índices pluviométricos mais altos quando comparados aos demais períodos.

Na maioria dos demais meses de coleta, as frequências de micronúcleos foram significativamente mais altas em todos os locais de exposição. Os valores de frequência de micronúcleos obtidos tanto no ponto controle, como nos locais de exposição, apesar de não indicarem um padrão de variação, foram, na sua maioria, superiores aos observados em exposições *in situ* de *T. pallida* em locais poluídos, descritos em trabalhos recentes, como os de Guimarães (2003), Luiz *et al.* (2005), Silva (2005) e Savóia (2007).

Os resultados das análises de urânio nos tecidos das plantas, obtidos para o ponto controle e para os pontos de exposição proporcionaram um mapeamento espacial da ocorrência desse elemento na área de estudo.

CONCLUSÃO GERAL

Com base nos resultados conclui-se:

- O bioensaio Trad-MCN mostrou que os efluentes líquidos provenientes dos lavadores de gases apresentaram baixa genotoxicidade. As concentrações de fluoreto e urânio, sob pH alcalino, foram insuficientes para promover alterações significantes na frequência de micronúcleos.
- O teste para controle positivo também não diferiu significativamente dos grupos experimentais e do controle negativo, isso sugere que o modo de aplicação utilizado para o controle positivo não foi apropriado para a metodologia adotada neste ensaio.
- Os gases provenientes do processo de enriquecimento de urânio considerados críticos - amônia e ácido fluorídrico - apresentaram alto potencial genotóxico quando testados em ensaios laboratoriais, em sistemas controlados.
- As baixas taxas de exposição à radiação gama emitidas pelo minério de urânio apresentaram alta genotoxicidade. Isso mostra que o bioensaio Trad-MCN é uma ferramenta eficaz para avaliação do potencial genotóxico de radiações ionizantes.
- Os resultados obtidos indicaram que *T. pallida* é um bioindicador sensível aos contaminantes testados em sistemas controlados e pode ser usada para monitoramento ambiental *in vitro* dos contaminantes aéreos na área de estudo.
- Nas exposições *in situ*, os resultados do bioensaio mostraram uma irregularidade na frequência de micronúcleos formados nos grupos de inflorescências coletadas nos diferentes locais de exposição, ao longo do período de estudo.

- O biomonitoramento *in situ* com *Tradescantia pallida*, por meio do bioensaio Trad-MCN aplicado neste trabalho, mostrou-se ineficiente para avaliação do potencial genotóxico da poluição aérea.
- *Tradescantia pallida* apresentou baixas concentrações dos íons fluoreto e urânio em suas folhas. Ainda assim, os resultados do urânio forneceram respostas expressivas para cada local de exposição.
- Diante dos resultados gerais, conclui-se que o Trad-MCN com *Tradescantia pallida* oferece um sistema facilmente executável e sensível para estudos de toxicidade genética. Porém, é mais eficaz quando realizado em situações experimentais em ambiente controlado.

BIBLIOGRAFIA

- ACIESP.** 1997. Academia de Ciências do Estado de São Paulo. 1997. Glossário de ecologia. 2ª edição. ACIESP, São Paulo.
- Alves, E.S., Pedroso, A.N.V., Domingos, M., Guimarães, E.T. & Saldiva, P.H.N.** 2003. Biomonitoramento *indoor* do potencial mutagênico do ar em laboratórios e herbário do Instituto de Botânica por meio do bioensaio Trad-MCN. *Hohenea* 30: 89-94.
- Alves, E.S., Souza, S.R., Pedroso, A.N.V. & Domingos, M.** 2007. Potential of the Trad-MCN assay applied with inflorescences of *Tradescantia pallida* 'Purpurea' for evaluating air contamination by naphthalene. doi 10.1016/j.ecoenv.2007.09.006.
- Arndt, U., Flores, F., Weinstein, L.** 1995. Efeitos do flúor sobre as plantas: diagnose de danos na vegetação do Brasil. Editora UFRGS, Porto Alegre.
- Arndt, U. & Schweizer, B.** 1991. The use of bioindicators for environmental monitoring in tropical and subtropical countries. *In*: H. Ellenberg, U. Arndt, B. Bretthauer, B. Ruthsatz & L. Steubing (eds.). *Biological Monitoring: signals from the environmental*. Vieweg & Sons, Eschborn, pp. 199-260.
- 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 *Tradescantia* micronuclei assay. *Mutation Research* 426: 229-232.
- Brena, N.A.** 2002. A chuva ácida e os seus efeitos sobre as florestas. 1ª edição. Fundação Biblioteca Nacional. São Paulo.

- Cardoso, E.M., Alves, I.P., Braz, C. & Pestana, S.** 2007. Apostila educativa: aplicações da energia nuclear. Comissão Nacional de Energia Nuclear. www.cnen.gov.br (acesso em 11.07.2007).
- Carneiro, R.M.A.** 2004. Bioindicadores vegetais de poluição atmosférica: uma contribuição para a saúde da comunidade. Dissertação de mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Carvalho, H.A.** 2005. A *Tradescantia* como bioindicador vegetal na monitoração dos efeitos clastogênicos das radiações ionizantes. *Radiologia Brasileira* 38: 459-462.
- Carvalho-Oliveira, R., Pozo, R.M.K., Lobo, D.J.A., Lichtenfels, A.J.F.C., Martins-Junior, H.A., Bustilho, J.O.W.V., Saiki, M., Sato, I.M. & Saldiva, P.H.N.** 2005. Diesel emissions significantly influence composition and mutagenicity of ambient particles: a case study in São Paulo, Brazil. *Environmental Research* 98: 1-7.
- CETESB.** 2002. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. 2002. Relatório da qualidade do ar no Estado de São Paulo: série relatórios 2002. CETESB, São Paulo.
- CETESB.** 2006. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. 2006. Relatório da qualidade do ar no Estado de São Paulo: série relatórios 2006. CETESB, São Paulo.
- CETESB.** 2008. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. 2008. Efeitos da poluição atmosférica na vegetação. <http://www.cetesb.sp.gov.br/Solo/vegetacao/poluicao.asp> (acesso em 28.01.2008).
- Chaves, A.L.F., Silva, E.A.M., Azevedo, A.A., Cano, M.A.O. & Matsuoka, K.** 2002. Ação do flúor dissolvido em chuva simulada sobre *Panicum maximum* Jacq. e *Chloris gayana* Kunth. (capim-rhodes) - Poaceae. *Acta Botanica Brasilica* 16(4): 395-406.
- Chies, J.M.** 1983. Ação mutagênica da integerrimina no sistema de pêlos estaminais de *Tradescantia* e meristemas radiculares de *Allium cepa*. UFRS. Porto Alegre.

- CTMSP.** 1997. Centro Tecnológico da Marinha em São Paulo. 1997. Plano de Monitoração Ambiental do Centro Experimental ARAMAR. CTMSP, São Paulo.
- CTMSP.** 2002. Centro Tecnológico da Marinha em São Paulo. 2002. Treinamento em proteção radiológica. CTMSP, São Paulo.
- Delone, N.L., Antipov, V.V. & Parfenov, G.P.** 1986. New type of chromosomal mutation observed in *Tradescantia paludosa* microspores during experiments in space satellites. Doklady Akademii Nauk Sssr 40: 163-173.
- Domingos, M., Klumpp, A., Rinaldi, M.C.S., Modesto, I.F., Klumpp, G. & Delitti, W.B.C.** 2003. Combined effects of air and soil pollution by fluoride emissions on *Tibouchina pulchra* Cogn., at Cubatão, SE Brazil, and their relations with aluminium. Plant and Soil 249: 297-308.
- Ennever, F.K., Andreano, G. & Rosenkranz, H.S.** 1998. The ability of plant genotoxicity assays to predict carcinogenicity. Mutation Research 205: 99-105.
- Fellenberg, G.** 1980. Introdução aos problemas da poluição ambiental. EPU, São Paulo.
- Fomin, A. & Hafner, C.** 1998. Evaluation of genotoxicity of emissions from municipal waste incinerators with *Tradescantia* micronucleus bioassay (Trad-MCN). Mutation Research 414: 139-148.
- Gomes, H.A., Nouailhetas, Y., Silva, N.C., Mezrahi, A., Almeida, C.E.B. & Rodrigues, G.S.** 2002. Biological response of *Tradescantia* stamen-hair to high levels of natural radiation in the Poços de Caldas plateau. Brazilian Archives of Biology and Technology 45: 301-307.
- Gong, P., Kuperman, R.G. & Sunahara, G.I.** 2003. Genotoxicity of 2,4- and 2,6-dinitrotoluene as measured by the *Tradescantia* micronucleus (Trad-MCN) bioassay. Mutation Research 538: 13-18.
- Grant, W.F.** 1998. Higher plant assays for the detection of genotoxicity in air polluted environments. Ecosystem Health 4: 210-229.

- Guimarães, E.T.** 2003. Poluição atmosférica na cidade de São Paulo e mutagênese: avaliação de riscos utilizando bioindicadores vegetais do gênero *Tradescantia*. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- 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 genotoxicity of air pollutants in and around the city of São Paulo (Brazil) with the *Tradescantia*-micronucleous (Trad-MCN) assay. *Environmental and Experimental Botany* 44: 1-8.
- IAEA.** 1978. International Atomic Energy Agency 1978. Late biological effects of ionizing radiation. Vol. I, International Atomic Agency, Vienna.
- Isidori, M., Ferrara, M., Lavorgna, M., Nardelli, A. & Parrella, A.** 2003. *In situ* monitoring of urbana air in Southern Italy with the *Tradescantia* micronucleus bioassay and semipermeable membrane devices (SPMDs). *Chemosphere* 52: 121-126.
- Klumpp, A.** 2001. Utilização de bioindicadores de poluição em condições temperadas e tropicais. *In: H.L. Martus, N.B. Maia & W. Barrela. Indicadores ambientais - temas atuais.* PUC São Paulo, São Paulo, pp. 77-94.
- Klumpp, A., Ansel, W., Fomin, A., Schnirring, S. & Pickl, C.** 2004. Influence of climatic conditions on the mutations in pollen mother cells of *Tradescantia* clone 4430 and implications for the Trad-MCN bioassay protocol. *Hereditas* 141: 142-148.
- Klumpp, A., Ansel, W., Klumpp, G. & Fomin, A.** 2001. Um novo conceito de monitoramento e comunicação ambiental: a rede europeia para a avaliação da qualidade do ar usando plantas bioindicadoras. (EuroBionet). *Revista Brasileira de Botânica* 24 (4): 511-518.
- Leal, T.C.S., Crispim, V.R., Correa R.S. & Gomes H.A.** 2005. Controle ambiental da genotoxicidade da radiação ionizante usando sistema bioindicador. *Anais do International Nuclear Atlantic Conference de 2005.*

- Lima, E.S.** 2007. Capacidade de *Tradescantia pallida* (Rose) DR Hunt cv Purpurea Boom para biomonitoramento do potencial clastogênico de ozônio. Dissertação de mestrado, Instituto de Botânica de São Paulo, São Paulo.
- Lima, J.S.** 2001. Processos biológicos e o biomonitoramento: aspectos bioquímicos e morfológicos. *In*: N.B. Maia, H.L. Martos & W. Barella. (orgs.). Indicadores ambientais: conceitos e aplicações. EDUC-Editora da PUC, São Paulo, pp. 95-115.
- Lodge Jr., J.P.** 1989. Methods of air sampling and analysis. Lewis Publishers, Inc. 3ª edição, p. 316-323.
- Lorenzi, H. & Souza, H.M.** 2001. Plantas ornamentais no Brasil: arbustivas, herbáceas, trepadeiras. Instituto Plantarum, Nova Odessa.
- Luiz, E.J., Lavendowski, I.M.F., Oliveira, G.P., Guimarães, E.T., Domingos, M. & Saldiva, P.H.N.** 2005. Biomonitoramento da qualidade do ar em Santo André. Serviço Municipal de Saneamento Ambiental de Santo André (SEMASA), Santo André.
- Manuais de Legislação Atlas.** 1996. Segurança e medicina do trabalho. Editora Atlas SA, São Paulo.
- Ma, T.H.** 1979. Micronuclei induced by X-rays and chemical mutagens in meiotic pollen mother cells of *Tradescantia* – a promising mutagen system. *Mutation Research* 64: 307-313.
- 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.** 1982. *Tradescantia* cytogenetic tests root-tip mitosis, pollen mitosis, pollen mother-cell meiosis. *Mutation Research* 99: 293-302.
- Ma, T.H.** 1983. *Tradescantia*-micronucleus Trad-MCN test for environmental clastogens. *In*: A.R. Kolber, T.K. Wong, L.D. Grant, R.S. DeWoskin, T.J. Hughes (eds.). *In vitro toxicity testing of environmental agents*. Part A, Plenum, New York, pp. 191-214.

- Ma, T.H.** 1990. *Tradescantia* micronucleus test on clastogens and in situ monitoring. In: M.L. Mendelsohn, R.J. Albertini (ed.). Mutation and the Environment. New York. Wiley-Liss, pp 83-90.
- Ma, T.H., Anderson, V.A. & Ahmed, I.** 1982. Environmental clastogens detected by meiotic pollen mother cells of *Tradescantia*. In: R.R. Tice, D.L. Costa, K.M. Schaich (eds.). Genotoxic effects of airborne agents. Environmental Science Research. Plenum Press, New York 25: 141-157.
- Ma, T.H., Cabrera, G.L., Gill, B.S., Sandhu, S.S., Vanderbeg, A.L. & Salamone, M.F.** 1994. *Tradescantia* micronucleus assay. Mutation Research 310: 221-230.
- Ma, T.H. & Grant, W. F.** 1982. The *Tradescantias* – adventurous plants. The herbarist 48: 36-44.
- 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. 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 an 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.
- Minouflet, M., Ayrault, S., Badot, P.M, Cotelle, S. & Ferard, J.F.** 2005. Assessment of the genotoxicity of ¹³⁷Cs radiation using *Vicia*-micronucleus, *Tradescantia*-micronucleus and *Tradescantia*-stamen-hair mutation bioassays. Journal of Environmental Radioactivity 81: 143-153.
- Mohammed, K. & 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.

- Okuno, E., Caldas I.L. & Chow, C.** 1986. Física para ciências biológicas e biomédicas. Editora Harbara Ltda. São Paulo, SP.
- Ribeiro, L.R., Salvadori, D.M.F. & Marques, E.K.** 2003. Mutagênese Ambiental. Editora da ULBRA. Canoas, RS.
- Rodrigues, G.S.** 1999. Bioensaio de toxicidade genética com plantas superiores – *Tradescantia* (MCN e SHM), milho e soja. Embrapa Meio Ambiente. Circular técnica 02. Jaguariúna.
- Rodrigues, G.S.** 1999a. Bioensaios de toxicidade genética com *Tradescantia*. Embrapa Meio Ambiente. Documento 14, Jaguariúna.
- Rodrigues, G.S. & Campos, J.M.S.** 2006. Análise de mutagenicidade em lodo de esgoto. EMBRAPA, Jaguariúna.
- Rodrigues, G.S., Ma, T.S., Pimentel, D. & Weinstein, L.H.** 1997. *Tradescantia* bioassays as monitoring systems for environmental mutagenesis. A review. Critical reviews in Plant Sciences 16: 325-359.
- Rodrigues, G.S., Ma, T.S., Pimentel, D. & Weinstein, L.H.** 1998. *In situ* assessment of pesticide mutagenicity in an integrated pest management program I – *Tradescantia* micronucleous assay. Mutation Research 412: 235-244.
- Rodrigues, G.S., Samia, A.M. & Leonard, H.W.** 1996. Genotoxic activity of ozone in *Tradescantia*. Environmental and Experimental Botany 36: 45-50.
- Roth, I.** 1964. Microtecnica Vegetal. Imprenta Universitaria-Universidad Central de Venezuela, Caracas.
- Russel, W.L.** 1956. Lack of linearity between mutation rate and dose for X-ray induced mutation in mice. Genetics 41: 655-658.

- Ruiz, E.F., Rabago, V.M.E., Lecona, S.U., Perez, A.B. & Ma, T.H.** 1992. *Tradescantia* micronucleus (Trad-MCN). Bioassay on clastogenicity of wastewater and in situ monitoring. *Mutation Research* 270: 45-51.
- Saldiva, P.H.N., Clarke, R.W., Coull, B.A., Stearns, R.C., Lawrence, J., Murthy, G.G.K., Diaz, E., Koutrakis, P., Suh, H., Tsuda, A. & Godleski, J.J.** 2002. Lung inflammation induced by concentrated ambient air particles is related to particle composition. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 165: 1610-1617.
- Sandhu, S.S., Ma, T.H., Peng, Y. & Zhou, X.** 1989. Clastogenicity evaluation of seven chemicals commonly found at hazardous industrial waste sites. *Mutation Research* 224: 43-445.
- Santos, I.T.Q.P.** 2004. Avaliação da atividade clastogênica do resíduo catalítico industrial, por meio do bioensaio de micronúcleo com *Tradescantia pallida* cv. Purpurea. Tese de doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Santos, T.C., Crispin, V.R., Noualhetas, Y., Macacini, J.F. & Gomes, H.A.** 2005. The study of the effects of low-level exposure to ionizing radiation using a bio-indicator system. *Applied Radiation and Isotopes* 62: 313-316.
- Savóia, E.J.L** 2007. Potencial de *Tradescantia pallida* cv. Purpúrea para biomonitoramento da poluição aérea de Santo André – São Paulo, por meio do bioensaio Trad-MCN e do acúmulo foliar de elementos tóxicos. Dissertação de mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Shima, N. & Ichikawa, S.** 1995. Mutagenic synergism detected between dimethyl sulfate and X-rays but not found between N-methyl-N-nitrosourea and X-rays in the stamen hairs of *Tradescantia* clone BNL 4430. *Mutation Research* 331: 79-87.
- Silva, J.S.** 2005. Efeitos genotóxicos em tétrades de *Tradescantia pallida* (Rose) D. R. Hunt var. *purpurea* induzidos por poluentes atmosféricos na cidade de Salvador-BA. Monografia, Universidade Federal de Feira de Santana, Feira de Santana-BA.

- Solenská, M., Micieta, K. & Misík, M.** 2006. Plant bioassays for in situ monitoring of air near an industrial area and municipal solid waste – Zilina (Slovakia). *Environmental Monitoring and Assessment* 115: 499-508.
- Sparrow, A.H., Underbrink, A.G. & Rossi, H.H.** 1972. Mutations induced in *Tradescantia* by small doses of X-rays and neutrons: analysis of dose-response curves. *Science* 176: 916-918.
- Sumita, N.M., Mendes, M.E., Macchione, M., Guimarães, E.T., Lichtenfels, A.J.C.F., Lobo, D.J.A., Saldiva, P.H.N. & Saiki, M.** 2003. *Tradescantia pallida* cv. *purpurea* Boom in the characterization of air pollution by accumulation of trace elements. *Journal Air & Waste Manage Assoc.* 53: 574-579.
- 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* var. *Purpurea* are equally sensitive to the clastogenic effects of X-rays. *Brasilian Journal of Medical and Biological Research* 35: 127-129.
- UFES,** 2007. Universidade Federal do Espírito Santo, 2007. Equipamentos de controle de poluição do ar. UFES, Espírito Santo.
- Wang, S. & Wang, X.** 1999. The *Tradescantia*-micronucleus test on the genotoxicity of UV-B radiation. *Mutation Research* 426: 151-153.
- Zengh, D., Li, Y. & Qingqiang, L.** 1999. Pollution monitoring of three rivers passing through Fuzhou City, People's Republic of China. *Mutation Research* 426: 159-161.

RESUMO GERAL

O biomonitoramento da contaminação atmosférica constitui importante procedimento para adoção de medidas de controle ambiental. Ensaio biológicos têm sido bastante empregados para avaliar agentes genotóxicos presentes no ambiente. Entre o bioensaios com plantas, o Trad-MCN tem sido extensivamente usado no monitoramento ambiental por sua eficácia na detecção de danos cromossômicos em preparações citológicas de fácil execução. O presente estudo objetivou avaliar, pelo bioensaio Trad-MCN, a genotoxicidade dos elementos testados, bem como a possibilidade de utilizar a espécie *Tradescantia pallida* em monitoramento *in situ*. Para tanto foram realizados ensaios laboratoriais, exposições *in situ* e análises de acúmulo foliar. Nos ensaios laboratoriais os elementos testados foram os efluentes líquidos provenientes de lavadores de gases, amônia e ácido fluorídrico, bem como a radiação ionizante gama, considerados representativos das atividades desenvolvidas no local. As exposições *in situ* foram executadas com mudas de *T. pallida* cultivadas em canteiros ou floreiras, estabelecidos próximos às fontes de emissão atmosférica. O bioensaio foi realizado de acordo com protocolo já consagrado. As frequências de micronúcleos foram comparadas fazendo uso da análise de variância Kruskal-Wallis. Os resultados obtidos indicaram que os ensaios experimentais, em condições controladas, foram válidos e que a *T. pallida* é um bioindicador sensível para os contaminantes testados e também é capaz de acumular discriminadamente o urânio. Porém, o modelo de biomonitoramento *in situ* adotado não foi adequado, provavelmente devido à forte influencia de fatores ambientais sobre a planta.

Palavras-chave: bioensaio, biomonitoramento, micronúcleos, Trad-MCN

GENERAL ABSTRACT

The biomonitoring of the atmospheric contamination constitutes important procedure for adoption of environmental control measures. Biological assays have been employed to evaluate genotoxic agents in the atmosphere. Among the bioassays using plants, the Trad-MCN has been used extensively in environmental monitoring owing to its efficacy in the detection of chromosomic damages in cytological preparations of easy execution. In this study, we investigated the viability of use of Trad-MCN with *Tradescantia pallida* cv. Purpurea to determine the genotoxicity of contaminants from the Experimental Center Aramar (CEA), in Iperó – SP. We tested the hypothesis that *T. pallida* can be used in the routine biomonitoring activities in CEA. The tested agents were liquid effluents from gas washing, gaseous ammonia and hydrogen fluoride, as well as the ionizant radiation, considered representative of the activities developed in this place. The assays for those elements were performed in the laboratory, under controlled conditions. Also we analysed the leaf acumulation capacity of *T. pallida*. The plants were also exposed *in situ*, in flower-beds or flowerpots, established close to the sources of atmospheric emission. The bioassay was developed according to the usual protocol. The micronucleus frequencies were compared using variance analysis Kruskal-Wallis. The obtained results indicated that the experiment in controlled conditions were valid and and that *T. pallida* is a sensitive bioindicator for the tested pollutants. Even so, the *in situ* biomonitoring model adopted was not adapted.

Key words: bioassay, biomonitoring, micronucleus, Trad-MCN