

UNIVERSIDADE TECNOLOGIA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA E BIOLOGIA
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM PROCESSOS AMBIENTAIS

THALITA DA SILVA COPELLI

**BIOMONITORAMENTO DA QUALIDADE DO AR UTILIZANDO
ENSAIO DE MICRONÚCLEO EM *Tradescantia sp***

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CURITIBA
2011

THALITA DA SILVA COPELLI

**BIOMONITORAMENTO DA QUALIDADE DO AR UTILIZANDO
ENSAIO DE MICRONÚCLEO EM *Tradescantia sp***

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação, apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso 2, do Curso Superior de Tecnologia em Processos Ambientais do Departamento Acadêmico de Química e Biologia – DAQBI – da Universidade Tecnológica em Processos Ambientais – UTFPR, como requisito parcial para obtenção do título de Tecnólogo em Processos Ambientais.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Lúcia Regina Rocha Martins
Co-orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Erica Pereira Félix

CURITIBA
2011

TERMO DE APROVAÇÃO

THALITA DA SILVA COPELLI

BIOMONITORAMENTO DA QUALIDADE DO AR UTILIZANDO ENSAIO DE MICRONÚCLEO EM *Tradescantia sp.*

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial à obtenção do grau de TECNÓLOGO EM PROCESSOS AMBIENTAIS do Departamento Acadêmico de Química e Biologia (DAQBI) do Câmpus Curitiba da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR e **APROVADO** pela seguinte banca examinadora:

Membro 1 – PROF^a. DR^a. MARLENE SOARES
Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR)
Departamento Acadêmico de Química e Biologia

Membro 2 – PROF. DR. THOMAZ AURÉLIO PAGIORO
Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR)
Departamento Acadêmico de Química e Biologia

Orientadora – PROF^a. DR^a. LUCIA REGINA ROCHA MARTINS
Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR)
Departamento Acadêmico de Química e Biologia

Coordenadora de Curso – PROF^a. DR^a. VALMA MARTINS BARBOSA

Curitiba, 21 de novembro de 2011.

RESUMO

COPELLI, Thalita S. BIOMONITORAMENTO DA QUALIDADE DO AR UTILIZANDO ENSAIO DE MICRONÚCLEO EM *Tradescantia sp.* Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso) Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

A poluição nas áreas urbanas tem apresentado altos índices sendo consequência do aumento do número de automóveis, de indústrias e de outras atividades poluidoras que causam malefícios a todos os seres vivos. Na tentativa de ter um maior controle da qualidade do ar, o órgão ambiental responsável pelo seu monitoramento na cidade de Curitiba, através das estações de monitoramento ambiental, emite boletins periódicos de qualidade. Nestas publicações encontram-se as medições diárias dos poluentes ambientais em diversas regiões da cidade, associado aos Índices de Qualidade do Ar, com o seu enquadramento nas categorias: boa, regular, inadequada, má ou péssima. Esses sistemas podem ser associados, com a finalidade de aumentar a sua eficiência, à sistemas de biomonitoramento, como uma metodologia complementar. O biomonitoramento é um recurso que permite avaliar, com baixo custo, a resposta de organismos vivos à poluição através de períodos de exposição variáveis e em áreas amplas. O teste do micronúcleo em *Tradescantia* (Trad-MCN) é empregado no monitoramento ambiental de diversos locais, tanto pelas características descritas acima quanto por sua eficiência na detecção de danos cromossômicos. No presente trabalho, foi realizado o biomonitoramento da qualidade do ar com *Tradescantia sp.*, na Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Curitiba, durante os meses de março a junho de 2011. Cinco floreiras foram homogeneamente preparadas e distribuídas em três pontos distintos da UTFPR adicionalmente à isso foram separadas duas floreiras para permanecerem em um local supostamente menos impactado atmosféricamente, essas floreiras foram envoltas em uma estrutura de madeira com plástico transparente. Foi possível determinar o número de micronúcleos em 300 tétrades por lâmina, e os resultados foram expressos pela média de micronúcleos por meses de exposição. As análises de poluentes atmosféricos foram cedidas pelo Instituto Ambiental do Paraná, e através desses valores foram obtidas as médias mensais dos poluentes. Foi evidenciado que nos pontos de exposição houve um aumento significativo de micronúcleos: Ponto 1 ($13,22 \pm 1,93$), Ponto 2 ($13 \pm 2,76$) e Ponto 3 ($13,44 \pm 3,17$) em relação ao ponto controle ($2,5 \pm 1,93$). Esses resultados, associados aos valores de IQA, permitiram constatar que há diferenças significativas na qualidade atmosférica entre os pontos de exposição e o ponto controle.

Palavras-chave: Biomonitoramento, *Tradescantia sp.*, teste do micronúcleo

ABSTRACT

COPELLI, Thalita S. BIOMONITORING OF AIR QUALITY USING THE MICRONUCLEUS ASSAY IN *Tradescantia sp.* Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso) Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

Pollution in urban areas have shown high rates due to increase in the number of cars, up industries and other polluting activities that cause harm to all living beings. In an attempt to gain control of air quality, the environmental agency responsible for monitoring air quality in the city of Curitiba, through environmental monitoring stations, issues air quality bulletins. These publications are related with measurements of environmental pollutants in various regions of the city, associated with Air Quality Index, with the framework of the air in three categories: good, fair, inadequate, poor or very poor. These systems can be associated, in order to increase its efficiency, with biomonitoring as a complementary methodology. Biomonitoring allows evaluate the response of organisms to pollution through low-cost, long periods of exposure and assessment of large areas,. The micronucleus assay with *Tradescantia* (Trad-MCN) is employed in environmental monitoring of various locations due to the characteristics described above and for its efficiency in detecting chromosomal damage. In the present work was done the biomonitoring of air quality with *Tradescantia sp* in the Federal Technological University of Parana, Curitiba campus, during March to June 2011. Five flower beds were prepared and homogeneously distributed in three distinct points of campus. In addition, two separate planters remained in a place with supposedly less atmospheric pollutants, these samples were wrapped in a wooden frame with clear plastic. It was possible to measure the number of micronuclei in 300 tetrads per slide, and the results were expressed as mean of micronuclei by months of exposure. It was shown that the point of exposure a significant increase of micronuclei: Point 1 (13.22 ± 1.93), Point 2 (13 ± 2.76) and Point 3 (13.44 ± 3.17) compared to the control point (2.5 ± 1.93). These results, combined with values of AQI, allowed observing that there are significant differences in air quality between the points of exposure and control place.

Keywords: Biomonitoring, *Tradescantia sp*, micronucleus assay

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Mapa das estações de monitoramento de Curitiba e RMC.....	14
Figura 2: <i>Tradescantia pallida</i>	17
Figura 3: Ciclo meiótico em <i>Tradescantia pallida</i>	19
Figura 4: Pontos de exposição das floreiras.	22
Figura 5: Floreiras de <i>Tradescantia sp</i> no Ponto 1.	22
Figura 6: Floreiras de <i>Tradescantia sp</i> no Ponto 2.	23
Figura 7: Floreiras de <i>Tradescantia sp</i> no Ponto 3.	23
Figura 8: local de exposição do Ponto Controle.....	24
Figura 9: Experimento de exposição em local afastados dos pontos de exposição (Ponto Controle)...	24
Figura 10: Inflorescências fixadas.....	25
Figura 11: Esquema da técnica de preparo das lâminas.	26
Figura 12: Materiais utilizados na confecção das lâminas.....	27
Figura 13: Tétrades sem alteração - aumento de 200x.....	29
Figura 14: Tétrade com micronúcleo - aumento de 400X.....	30
Figura 15: Tétrades com micronúcleos - aumento de 200X.....	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Enquadramento por categoria em função do IQA da estação.	13
Tabela 2: Frequências médias de micronúcleos no período de exposição considerado.	30

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Média dos IQA dos poluentes atmosféricos das estações Santa Cândida e Ouvidor Pardino nos meses de abril, maio e junho.....	29
Gráfico 2: Mediana de micronúcleos com os respectivos quartis	31

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	10
2.1. A POLUIÇÃO ATMOSFÉRICA: retrospecto histórico em grandes cidades	10
2.2. DEFINIÇÕES DE POLUENTES E POLUIÇÃO	10
2.3 EFEITOS DA POLUIÇÃO ATMOSFÉRICA.....	11
2.4 PADRÕES DE QUALIDADE DO AR.....	11
2.5 ÍNDICES DE QUALIDADE DO AR NO PARANÁ.....	12
2.6 MONITORAMENTO DA QUALIDADE DO AR.....	13
2.7 BIOMONITORAMENTO E BIOINDICAÇÃO.....	14
2.8 BIOMONITORAMENTO DA QUALIDADE DO AR.....	15
2.9 ESPÉCIE BIOINDICADORA	17
2.10. BIOENSAIOS GENOTOXICOLÓGICOS.....	17
2.10.1. TESTE MICRONÚCLEO (Trad – MCN)	18
3.OBJETIVOS	20
3.1. OBJETIVO GERAL	20
4. METODOLOGIA	21
4.1 CULTIVO DA ESPÉCIE <i>Tradescantia sp</i>	21
4.2 EXPOSIÇÃO DAS AMOSTRAS.....	21
4.3 COLETA E PREPARO DAS AMOSTRAS.....	25
4.3.1. MATERIAIS UTILIZADOS NA PREPARAÇÃO CITOLÓGICA.....	27
4.5. ANÁLISE DA QUALIDADE DO AR	28
4.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA	28
5.RESULTADOS E DISCUSSÕES	28
7 CONCLUSÃO	34
REFERÊNCIAS.....	35

1. INTRODUÇÃO

A poluição atmosférica é um fenômeno decorrente principalmente de vários aspectos da atividade humana, dentre os quais podemos destacar o crescimento populacional, industrial e os hábitos da população (KAWANO, 2003).

As alterações ambientais provocadas pelo homem, as quais vão desde a manipulação do fogo até a queima de combustíveis diversos para alimentar suas máquinas refletem os impactos tecnológicos, econômicos e sociais da Revolução Industrial, têm trazido sérias implicações para os ecossistemas e, paradoxalmente, para a saúde e o bem estar do próprio agente causador (LIMA, 2007).

A qualidade do ar é um dos principais tópicos que envolvem a ação tóxica de xenobióticos sobre a saúde humana. Estimativas anuais indicam que dezenas de milhares de mortes prematuras podem estar associadas à exposição a poluentes atmosféricos. Dessa forma, a Organização Mundial de Saúde (OMS) considera que o ar limpo é um importante requisito para a manutenção da saúde humana, e a elevada concentração de poluentes atmosféricos pode ser a causa da degradação de fauna e flora, bem como a deterioração de monumentos históricos e de construções modernas (OGA et al, 2008).

Os efeitos acima descritos ocorrem com uma frequência significativa em aglomerações urbanas, tendo em vista que uma grande quantidade dos mais variados poluentes são emitidos em áreas relativamente limitadas e muitos indivíduos estão sendo afetados, considerando a alta densidade populacional das metrópoles (KLUMPP et al, 2001).

Estudos científicos a respeito do impacto de poluentes atmosféricos sobre espécies vegetais datam do século passado, quando mudanças na composição das comunidades líquênicas epífitas em áreas poluídas foram descritas por Grindon (1859) e Nylander (1866) (KLUMPP a, 2001).

A bioindicação, no sentido ecotoxicológico, pode ser definida como a utilização de seres vivos para a verificação e avaliação dos efeitos das diversas formas de poluição ambiental (KLUMPP, 2001).

Considerando a utilização de vegetais superiores como organismos bioindicadores de poluentes atmosféricos, alguns estudos podem ser destacados em relação ao efeito genotóxico, utilizando a frequência de micronúcleos em células-mãe de grãos de pólen da espécie *Tradescantia pallida* como parâmetro analisado. Em 2008, JUNIOR verificou um possível efeito mutagênico causado pelo combustível de aeronaves em tétrades de *Tradescantia pallida*, no Aeroporto Internacional de São Paulo e em outros dois pontos desta mesma

cidade, os quais fazem parte da rota das aeronaves. Os resultados indicaram uma correlação positiva entre Compostos Orgânicos Voláteis (COV's), provenientes dos combustíveis de aeronaves, e o aumento da frequência de micronúcleos nos locais de maior concentração dos compostos.

Outro estudo, realizado por ALVES (2010), avaliou a genotoxicidade do material particulado orgânico proveniente da queima de biomassa em três diferentes concentrações, a partir de amostras coletadas nos meses de agosto a dezembro de 2008. Esse trabalho demonstrou que o material orgânico coletado no período de maior queima foi capaz de elevar significativamente a taxa de micronúcleo em tétrades de *Tradescantia pallida*, quando comparados com período de menor queima.

Dessa forma, o presente trabalho consiste em uma avaliação biológica da qualidade do ar, utilizando como organismo bioindicador a espécie vegetal *Tradescantia sp.*, através do bioensaio denominado Trad-MCN. Este método tem sido empregado em diversos trabalhos científicos e apresentado considerável eficiência para avaliar o potencial genotóxico dos poluentes aéreos.

O presente estudo será direcionado para a avaliação do efeito genotóxico de poluentes atmosféricos através da análise de inflorescências da espécie *Tradescantia sp.*, planta que vem sendo utilizada como organismo experimental, em virtude de suas características genéticas (RODRIGUES, 1999). Com relação as características mencionadas anteriormente destaca-se o fato de que as células de quase todas as partes da planta fornecem excelente material para estudos citogenéticos (MACHADO, 2008 *apud* MA & GRANT, 1982).

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. A POLUIÇÃO ATMOSFÉRICA: retrospecto histórico em grandes cidades

A dispersão de poluentes na atmosfera acompanha o homem desde a antiguidade, quando começou-se a utilizar a queima da madeira como fonte principal de energia para as atividades domésticas. A partir do século XIII, o uso do carvão vegetal alavancou diversas atividades econômicas e sociais e, desde então, deu-se início ao desenvolvimento de legislações ambientais (OGA et al, 2008).

Em 1911, mil cento e cinquenta pessoas morreram devido à fumaça produzida pelo carvão e nos Estados Unidos, em 1948, na cidade de Donora no estado da Pensilvânia a poluição atmosférica matou 30 pessoas e deixou cerca de 6 mil internadas com problemas respiratórios (BRAGA, 2002).

Durante as décadas de 60 e 70, episódios agudos de poluição do ar no estado de São Paulo levaram a população ao pânico, estado este motivado pelos fortes odores provenientes do excesso de lançamento industrial de poluentes na atmosfera, causando dessa forma transtornos como mal-estar generalizado e excedendo a capacidade de atendimento dos serviços médicos de urgência. (OGA et al, 2008).

Em 1990, a Cidade do México excedeu as diretrizes para o ar durante 310 dias e em 1992 os níveis de ozônio chegaram a 40 ppb (BAIRD, 2002).

Mesmo sendo uma capital que, aparentemente, alcançou êxito no que diz respeito à resolução de problemas relativos ao meio ambiente, Curitiba apresenta sérios problemas relacionados à qualidade do ar. Este fato deve-se principalmente à industrialização, concentrada na porção sudoeste da cidade, ao transporte urbano na área central e às atividades ligadas à mineração, na região norte do município (MENDONÇA, 2002)

2.2. DEFINIÇÕES DE POLUENTES E POLUIÇÃO

Utilizando como referência a resolução CONAMA 003/1990 (CONAMA 1990), define-se que poluente atmosférico é qualquer forma de matéria ou energia com intensidade e em quantidade, concentração, tempo ou características em desacordo com os níveis estabelecidos e que tornem ou possam tornar o ar impróprio, nocivo ou ofensivo à saúde; inconveniente ao bem estar público; danoso aos materiais, à fauna e flora; prejudicial à segurança, ao uso e gozo da propriedade e às atividades normais da comunidade.

Outro conceito para o termo poluente pode ser definido como: substâncias químicas encontradas no meio ambiente, em concentrações suficientemente altas para prejudicar pessoas ou organismos. Sendo assim, a poluição do ar, ou poluição atmosférica, é a presença desses componentes na atmosfera em condições capazes de alterar o clima (MILLER, 2011).

2.3 EFEITOS DA POLUIÇÃO ATMOSFÉRICA

Os principais efeitos tóxicos produzidos pela exposição da população a poluentes atmosféricos são (OGA et al, 2008):

- Agudos: lacrimejamento, dificuldades de respiração e diminuição da capacidade física;
- Crônicos: alteração da acuidade visual, alteração da ventilação pulmonar, asma, bronquite, doenças cardiovasculares, enfisema pulmonar e câncer pulmonar.

Os grupos que apresentam maior risco na sociedade são aqueles que representam a parcela mais sensível da população: idosos, crianças, gestantes, portadores de deficiência respiratória ou cardíaca (OGA et al, 2008).

Em relação aos efeitos genéticos, estudos realizados nas cidades do Rio de Janeiro, São Paulo e Porto Alegre, com amostras de ar de zonas urbanas e industriais demonstram o potencial mutagênico em algumas áreas relacionados com a emissão proveniente de veículos, pelo ensaio *Salmonella*/microsoma. Em outros casos, as populações expostas a esses agentes têm seus efeitos genotóxicos comprovados com o aumento na ocorrência de aberrações cromossômicas e trocas de cromátides irmãs (SCEs) detectados em estudos de monitoramento citogenético (LEMOS, TERRA, 2003).

2.4 PADRÕES DE QUALIDADE DO AR

A legislação de qualidade do ar do Brasil segue as diretrizes da legislação dos EUA publicada pela *Environmental Protection Agency* (EPA), a qual fixa os níveis máximos permitidos para diversos poluentes atmosféricos, especificando a exposição em função da máxima concentração de um poluente em relação a um período médio de tempo (BRAGA et al., 2002).

Entende-se como padrão de qualidade do ar a determinação de um limite máximo para a concentração de componentes atmosféricos, de forma que estas a assegurar a proteção da saúde e do bem-estar das pessoas e dos organismos expostos (KAWANO, 2003).

A Resolução CONAMA 003/1990 estabelece dois tipos de padrões de qualidade do ar: primários e secundários:

- **Padrões Primários:** concentrações de poluentes que, se ultrapassadas, poderão afetar a saúde da população, são metas a serem alcançadas em curto e médio prazo.
- **Padrões Secundários:** concentração de poluentes abaixo das quais se prevê o mínimo efeito adverso sobre o bem-estar da população, assim como o mínimo dano à fauna, à flora, aos materiais e ao meio ambiente em geral. São metas de longo prazo.

Sendo assim, os padrões primários devem ser entendidos como concentrações máximas toleráveis de poluentes. Da mesma forma, os padrões secundários criam bases para políticas de prevenção da degradação da qualidade do ar e devem ser aplicados às áreas de preservação, como parques nacionais (OGA et al, 2008).

2.5 ÍNDICES DE QUALIDADE DO AR NO PARANÁ

Segundo o Instituto Ambiental do Paraná (IAP), o índice de qualidade do ar (IQA) padroniza todos os poluentes medidos em uma única escala. Através deste índice, o impacto de um poluente pode ser comparado com o de outro, pois os valores correspondem a um mesmo efeito, ou seja, é utilizado para facilitar a divulgação dos resultados à população.

O IQA é obtido através de uma função linear segmentada, onde os pontos de inflexão são os padrões de qualidade do ar e os níveis de atenção, alerta e emergência. Para cada poluente medido é calculado um valor de índice e correlacionado com a qualidade do ar (KAWANO, 2003).

Os parâmetros avaliados sistematicamente na cidade do Curitiba, através de análises em estações de monitoramento, são: dióxido de enxofre (SO₂), dióxido de nitrogênio (NO₂), ozônio (O₃), monóxido de carbono (CO), partículas inaláveis (PI), partículas totais em suspensão (PTS) e fumaça. A **Tabela 1** apresenta a categorização dos índices de qualidade do ar, baseado nos escores obtidos com as análises dos poluentes citados.

Tabela 1: Enquadramento por categoria em função do IQA da estação.

ÍNDICE DE QUALIDADE DO AR	CATEGORIA	IMPACTO	POLUENTES ($\mu\text{g.m}^{-3}$)		
			SO ₂ (24h)	O ₃ (1h)	NO ₂ (1h)
0-50	BOA	Nenhum ou muito pequeno	0-80	0-80	0-100
50-100	REGULAR	Apenas em pessoas muito sensíveis	80-365	80-160	100-320
100-200	INADEQUADA	Em pessoas sensíveis	365-800	160-400	320-1130
200-300	MÁ	Em pessoas com sensibilidade média e com efeitos mais graves	800-1600	400-800	1130-2260
Acima de 300	PÉSSIMA OU CRÍTICA	Na população em geral	1600-2100	800-1000	2260-3000

Fonte: IAP com adaptações.

2.6 MONITORAMENTO DA QUALIDADE DO AR

Atualmente, a rede de monitoramento da região metropolitana de Curitiba conta com doze estações de amostragem do ar, sendo oito automatizadas. Quatro estações estão distribuídas em Curitiba e estão localizadas nos bairros Cidade Industrial, Santa Cândida, Boqueirão e centro (Praça Ouvidor Pardinho); as outras estações localizam-se nas cidades de Araucária e Colombo.

As estações analisam de 30 em 30 segundos os parâmetros descritos no item acima, e essas informações alimentam um banco de dados, os quais geram escores a partir dos quais é determinado o IQA das regiões amostradas.

A Figura 1 fornece a localização das estações de amostragem do ar da rede de monitoramento de Curitiba e da região metropolitana, sendo as representadas com a coloração verde automatizadas e, na coloração laranja, as manuais.

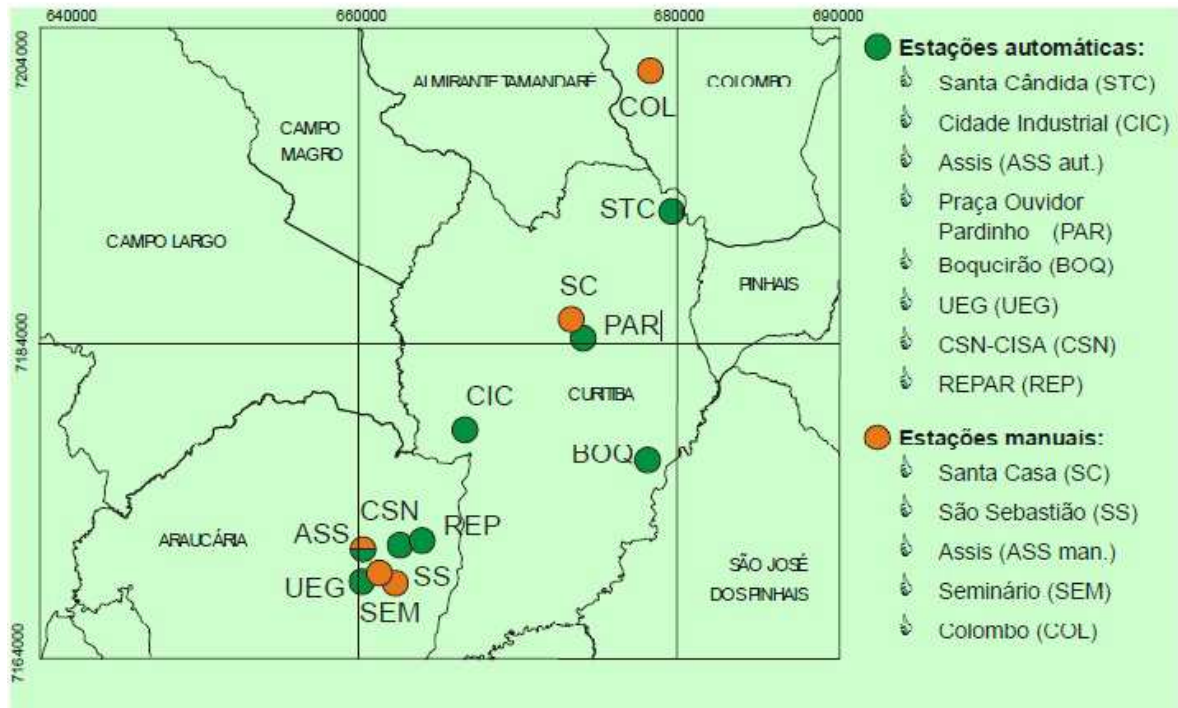


Figura 1: Mapa das estações de monitoramento de Curitiba e RMC.

Fonte: Relatório de monitoramento da qualidade do Ar de Curitiba de 2009 IAP

2.7 BIOMONITORAMENTO E BIOINDICAÇÃO

A importância em avaliar a qualidade do ar atmosférico reside no fato de que, sem o ar, resistimos apenas alguns minutos, entretanto sem comida e sem água podemos sobreviver semanas ou dias, respectivamente. Sendo assim, as agências de controle ambiental passaram a recomendar o emprego de testes de natureza biológica, química e física para a verificação do potencial tóxico dos componentes da atmosfera (ALVES, 2010).

A qualidade do ar pode ser avaliada em níveis local, regional, nacional e internacional, através de estimativas das emissões, do uso de modelos matemáticos e de medidas de concentrações ambientais dos principais poluentes usando métodos físicos e químicos. Porém os resultados dessas medidas não permitem conclusões imediatas a respeito dos impactos dos poluentes em seres vivos, pois esses efeitos são dependentes também do clima, do estado nutricional, da predisposição, da idade, dentre outros fatores bióticos (KLUMPP, 2001).

Avaliar o comportamento do poluente no ambiente, ou seja, monitorar a sua ação através de organismos vivos é um tópico recente nas ciências ambientais, o qual tem sido denominado de **biomonitoramento** ou **bioindicação** (LIMA, 2001)

O monitoramento significa medir de forma contínua uma variável em um determinado período de tempo. Sendo assim, o biomonitoramento ou monitoramento biológico significa obter medidas através de algum organismo biológico, seja ele como um todo ou por meio de algum tecido específico (SILVA, HEUSER, ANDRADE, 2003).

Markert (1993) em seu trabalho com bioindicadores de metais pesados definiu bioindicação e biomonitoramento conforme segue:

Bioindicação é o uso de um organismo (uma parte do organismo ou uma sociedade de organismos) para se obter as informações sobre a qualidade de seu ambiente ou parte dele. Organismos que são capazes de fornecer informações sobre a qualidade do seu ambiente são bioindicadores. Biomonitoramento é a observação contínua de uma área com ajuda de bioindicadores, os quais, neste caso, devem ser chamados de biomonitores.

Dessa forma autores afirmam que existem três principais situações que levam a um biomonitoramento (SILVA, HEUSER, ANDRADE, 2003):

- (1) Onde há razões para se acreditar que espécies nativas estão ameaçadas;
- (2) Quando há implicações para a saúde humana quanto ao consumo de organismos potencialmente afetados;
- (3) Quando existe o interesse de conhecer a qualidade ambiental.

Dentre os organismos bioindicadores de qualidade do ar destacam-se líquens, musgos e as plantas superiores (CARNEIRO, 2004).

A capacidade dos líquens em monitorar a poluição do ar deriva da sensibilidade à contaminação. E o progresso desse estudo é dependente de metodologias adaptadas para alcançar uma avaliação sensível e confiável da poluição (GARTY et al, 2002).

Pelo seu tamanho, anatomia simples e ausência de cutícula os líquens e musgos têm capacidade em acumular metais pesados em seus tecidos e, adicionalmente a essa característica, eles toleram longos períodos de seca e colonização de áreas com condições ambientais extremas. Essas propriedades fazem desses organismos importantes biomonitores da poluição ambiental (ADAMO et al, 2002).

Vegetais superiores, particularmente a *Tradescantia sp.*, *Alium cepa* e *Vicia faba*, têm sido aplicados para a avaliação da poluição, tanto na água quanto na atmosfera (SILVA, HEUSER, ANDRADE, 2003).

2.8 BIOMONITORAMENTO DA QUALIDADE DO AR

O biomonitoramento é classificado segundo Falla et al. (2000) em ativo e passivo

Pela definição de Lima (2001) tem-se:

- Biomonitoramento passivo: Utilização de alguns organismos naturalmente existentes em uma determinada área de pesquisa;
- Biomonitoramento ativo: Exposição de organismos na área a ser avaliada por um tempo definido em condições controladas.

A principal vantagem da utilização de organismos para a análise da qualidade de uma área é a resposta, que pode ser obtida em relação à exposição cumulativa em organismos e populações a respeito da verificação de letalidade e sub-letalidade, além de detectar efeitos indiretos (SILVA, HEUSER, ANDRADE, 2003).

Constantemente as plantas demonstram ser mais sensíveis à poluição que os animais, incluindo o homem e dessa forma, estudos sobre a avaliação dos poluentes sobre a vegetação fornecem subsídios importantes para a avaliação da poluição atmosférica (ALVES, 2001). Essa sensibilidade é justificada pela presença dos estômatos nesses organismos, uma vez que através deles são efetuadas as trocas gasosas, as quais podem provocar efeitos fisiológicos, metabólicos, estruturais e ultraestruturais. As consequências frequentemente observadas são: clorose, descoloração da folha e necrose em tecidos e órgãos (LARCHER, 2000 *apud* PEDROSO, 2006).

As espécies vegetais utilizadas em biomonitoramento podem ser classificadas de acordo com o tipo de reação ao poluente, de acordo com Termmerman et al (2004):

- Bioindicadoras: são sensíveis e apresentam sintomas como necroses e cloroses foliares, bem como alteração na morfologia e aborto de flores e frutos;
- Biosensoras ou biomarcadoras: sintomas não são macroscopicamente visíveis, necessitando de microscópio ou técnicas de análises fisiológicas;
- Bioacumuladoras: Espécies menos sensíveis à poluição do ar, acumulam partículas de gases-traço em seus tecidos;
- Indicadoras ecológicas: São observadas mudanças em comunidades vegetais, como o desaparecimento de espécies não tolerantes à poluição ou colonização de espécies oportunistas e/ou mais tolerantes.

Em ensaios com plantas bioindicadoras há necessidade da padronização de cultivo e exposição, até a verificação dos efeitos e avaliação dos resultados para a validação (KLUMPP, 2001).

Entre os bioensaios desenvolvidos com inflorescências de *Tradescantia pallida*, o teste de micronúcleo (Trad – MCN) é o mais utilizado (SAVOIA, 2007).

O ensaio em questão há muito vem sendo empregado pela sua grande efetividade na detecção de danos cromossômicos, à simplicidade com que é executado e ao seu baixo custo financeiro de sua metodologia (MACHADO, 2008).

2.9 ESPÉCIE BIOINDICADORA

As plantas superiores são muito úteis para atuarem como bioindicadoras, por serem organismos eucarióticos, complexos geneticamente e por serem facilmente cultiváveis e mantidas para serem utilizadas nos estudos de toxicidade genética (ALVES, 2001).

A *Tradescantia pallida* (Figura 2), pertence à família *Commelinaceae*, ordem *Commelinales* e gênero *Commelina*. É uma monocotiledônia de distribuição cosmopolita, ocorrendo em regiões tropicais e subtropicais e com florações durante o ano inteiro (JOLY, 1977).



Figura 2: *Tradescantia pallida*.
Fonte: <http://www.designundersky.com/dus/>

2.10. BIOENSAIOS GENOTOXICOLÓGICOS

Os bioensaios com espécies vegetais para a detecção de agentes mutagênicos têm sido reconhecidos como excelentes indicadores de danos cromossômicos induzidos por toxicantes presentes no ar (SILVA, 2005).

A função primária dos testes genotoxicológicos é investigar, através da utilização de células ou organismos, o potencial de agentes químicos induzirem mutações (SILVA, FONSECA, 2003).

2.10.1. TESTE MICRONÚCLEO (Trad – MCN)

O teste foi desenvolvido, no *Brookhaver National Laboratory* – EUA (SISENANDO et al, 2009), sendo detalhado com observações especiais e características favoráveis em 1981 por Te Hsiu Ma em seu estudo sobre o bioensaio de micronúcleo e aborto de polen em *Tradescantia sp.*

O ensaio denominado Trad-MCN é realizado a partir das células na fase de tétrade, as quais são quatro células haploides que mais tarde se diferenciaram em grãos de polén. (RAVEN, EVERT, EICHHORN, 1996)

O ensaio oferece vantagens de um procedimento simples e eficaz, permitindo a avaliação do dano cromossômico em preparações citológicas de rápida execução. Adicionalmente, em divisão meiótica os cromossomos são mais sensíveis à quebra de cromossomos mitóticos, especialmente na prófase I, isso permite um aumento da sensibilidade, contribuindo positivamente para a eficiência do teste (SILVA, 2005).

Micronúcleos são fragmentos formados em células filhas, decorrentes de danos induzidos em células parentais. Estes corpúsculos resultam de quebras cromossômicas que não podem ser incorporados ao núcleo principal, sendo formada uma membrana nuclear ao redor do material genético que foi perdido (RIBEIRO, 2003).

A **Figura 3** demonstra a divisão celular de *Tradescantia pallida* com as setas indicando a presença de micronúcleos.

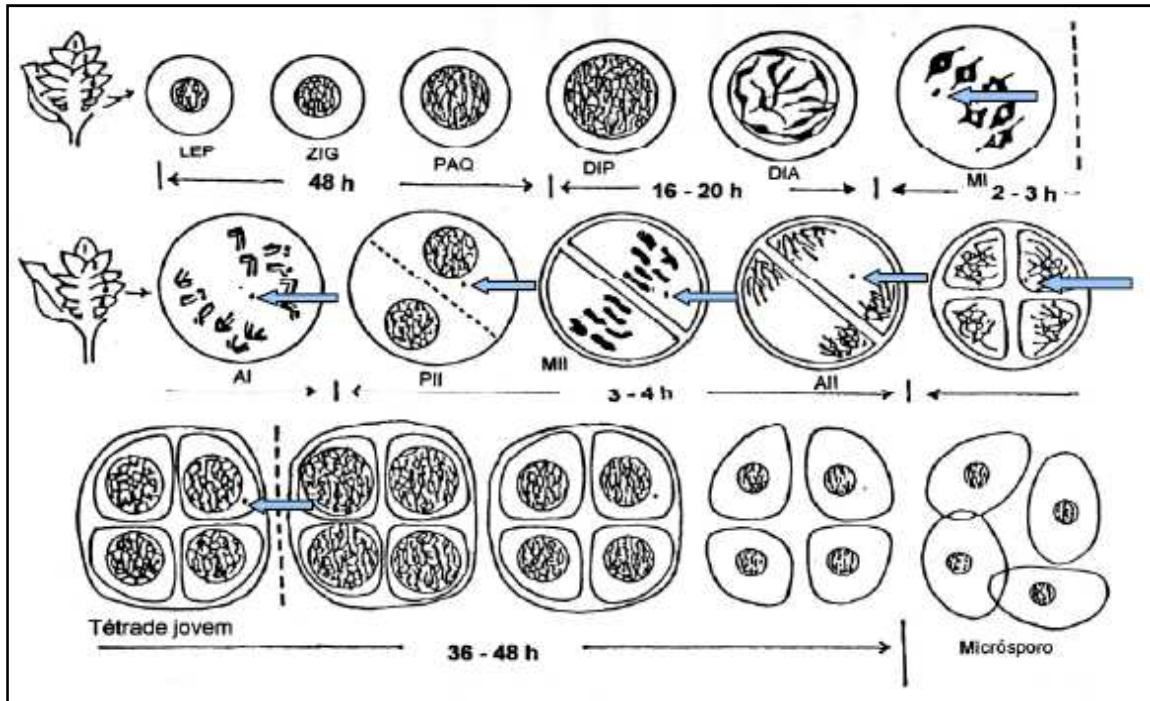


Figura 3: Ciclo meiótico em *Tradescantia pallida*
 Fonte: Ma, 1983 apud LIMA, 2007

3.OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

O principal enfoque do presente estudo é avaliar os efeitos genotóxicos de poluentes atmosféricos em regiões da cidade de Curitiba, através da análise da frequência de micronúcleos em inflorescências de *Tradescantia sp.*

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver o cultivo da espécie *Tradescantia sp* em floreiras;
- Realizar a exposição das floreiras em locais selecionados no Câmpus Curitiba da Universidade Tecnológica Federal do Paraná;
 - Desenvolver um protocolo experimental de análise de micronúcleos no laboratório de biologia do DAQBI;
 - Avaliar a frequência de micronúcleos nas inflorescências provenientes do cultivo, durante o período de exposição, comparando com amostras controle cultivadas e mantidas em local com baixa incidência de poluentes atmosféricos;
 - Verificar a correlação entre a frequência de micronúcleos das amostras avaliadas com os índices de qualidade do ar para o mesmo período;
 - Analisar estatisticamente os valores de micronúcleos encontrados, através de método não-paramétrico e análises de significâncias.

4. METODOLOGIA

4.1 CULTIVO DA ESPÉCIE *Tradescantia sp*

Para o desenvolvimento do trabalho, amostras vegetais da espécie *Tradescantia sp.* utilizadas nos experimentos foram inicialmente cultivadas em condições adequadas para o desenvolvimento vegetativo e produção regular de flores. Um lote contendo 85 mudas foi adquirido de um único fornecedor, de forma a preservar a variabilidade dos organismos a serem expostos.

O cultivo foi feito em floreiras, contendo de 4 (quatro) a 5 (cinco) plantas em cada. Para o plantio, preparou-se substrato com composição adequada para a espécie, contendo: 2 (duas) partes de terra vegetal, 1 (uma) parte de substrato comercial, 1 (uma) parte de vermiculita fina e 1 (uma) parte de húmus de minhoca (SISENANDO, 2009). Quinzenalmente, foi aplicado fertilizante NPK 10:10:10 comercial granulado, cuja solução foi preparada conforme as recomendações do fabricante.

A umidificação foi feita nos horários de pouca incidência solar, ou no começo da manhã ou no final da tarde, com intervalos de 3 (três) a 4 (quatro) dias entre as umidificações.

4.2 EXPOSIÇÃO DAS AMOSTRAS

As floreiras foram plantadas em outubro de 2010 e o período de exposição teve início após a completa formação e amadurecimento das mudas, a partir do dia 16 de março de 2011. Foram selecionados locais dentro do campus Curitiba da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, em três pontos distintos, conforme a **Figura 4**, a saber:

- Ponto 1: 25°26'24.50"S/049°16'09.17"W esquina das avenidas Desembargador Wetsphalen e Silva Jardim;
- Ponto 2: 25°26'21.46"S/049°16'09.17"W atrás da cantina dos funcionários, corredor de acesso ao pátio central;
- Ponto 3: 25°26'22.31"S/049°16'5.14W entrada do Bloco Q, em frente à quadra de esportes.



Figura 4: Pontos de exposição das floreiras.
Fonte: Google Earth

Os pontos de exposição foram escolhidos em função do intenso tráfego de veículos nas proximidades (Ponto 1) e para a verificação de uma possível variabilidade na região interna do campus (Pontos 2 e 3), de tal forma que fosse possível a comparação da qualidade atmosférica entre os pontos de exposição e o ponto controle.

Os locais de exposição estão apresentados nas **Figuras 5, 6 e 7** abaixo.



Figura 5: Floreiras de *Tradescantia sp* no Ponto 1.



Figura 6: Floreiras de *Tradescantia sp* no Ponto 2.



Figura 7: Floreiras de *Tradescantia sp* no Ponto 3.

Duas floreiras foram cultivadas e mantidas em local diferente dos pontos de exposição, como fonte de amostras para controle e comparabilidade experimental. Esse local foi escolhido conforme os seguintes critérios: estar localizado dentro do perímetro urbano da cidade de Curitiba (e, portanto, sob condições climáticas semelhantes), porém em região com significativa redução de tráfego de veículos e emissão de gases tóxicos. Esse experimento controle foi realizado no bairro Santa Cândida conforme coordenadas: 25°21'47.72"S/049°12'46.94"W (**Figura 8**), distante 12 Km dos locais de exposição. No local das floreiras, foi construída uma estrutura em madeira recoberta por um plástico transparente, o que possibilitava a passagem de luz e evitava a deposição de materiais particulados (**Figura**

9). Para essas floreiras, as amostragens foram realizadas com a mesma periodicidade que os locais de exposição (UTFPR), assim como a umidificação e a aplicação periódica de fertilizante ocorreram de modo sincronizado nesse local.



Figura 8: local de exposição do Ponto Controle.
Fonte: Google Earth



Figura 9: Experimento de exposição em local afastados dos pontos de exposição (Ponto Controle).

4.3 COLETA E PREPARO DAS AMOSTRAS

As coletas foram realizadas mensalmente, a partir do dia 16 de março de 2011. As floreiras e talos foram numerados com um código de cores para facilitar a tabulação dos dados e para não danificar as identificação das floreiras com a chuva.

As amostras de inflorescências foram processadas conforme o seguinte procedimento descrito a seguir e ilustrado nas **Figura 10 e 11**.

1. As inflorescências em hastes de *Tradescantia sp* foram coletadas e imersas no fixador de *Carnoy* (1parte de ácido acético glacial em 3 partes de álcool etílico 98%) em frascos coletores universais, devidamente identificados e permaneceram nessa solução por, no mínimo, 48h (**Figura 10**). Após o período de fixação, a solução foi substituída por álcool 70% (LOBO, 2009).



Figura 10: Inflorescências fixadas

2. Em lâmina histológica, com auxílio de lupa estereoscópica, as pétalas da inflorescência foram retiradas com o auxílio de pinça de ponta fina, como objetivo de retirar a estrutura floral que contém as células-mãe de grãos de pólen(anteras). Em estágio de tétrades, são pequeninas estruturas brancas com o formato de rins, com uma fina haste, o filete (SISENANDO, 2009).

3. O material (anteras) foi macerado com uma gota do corante orceína acética e auxílio de sonda histológica; posteriormente, foram retirados todos os “debris” (fragmentos

celulares resultantes da maceração do botão), e uma lamínula foi sobreposta ao material (SISENANDO, 2009).

4. Sob microscópio óptico de luz (aumento de 400 vezes), ao ser observada a presença de tétrades no material, a lâmina é aquecida a 70°C por 8 a 15 segundos, para a maior penetração do corante nas células.

5. Após, a lamínula é pressionada contra o material e o excesso de corante é removido com papel absorvente. Novamente é feita a checagem da presença de tétrades no material e as lâminas são seladas com esmalte incolor, para evitar o descoloramento até o momento da análise de micronúcleos.

6. São analisadas 300 tétrades por lâmina, sendo simultaneamente contabilizadas a ocorrência de micronúcleos e alterações estruturais. Para que a representatividade da amostragem seja garantida, no presente trabalho foram confeccionadas 3 lâminas para cada mês de exposição e ponto de amostragem, inclusive para o Ponto Controle.

Os resultados são tabelados, com os números de micronúcleos encontrados em 300 células e o número de alterações cromossômicas encontradas nesse mesmo espaço amostral (pontes cromossômicas, cromossomos retardatários e micrócitos).

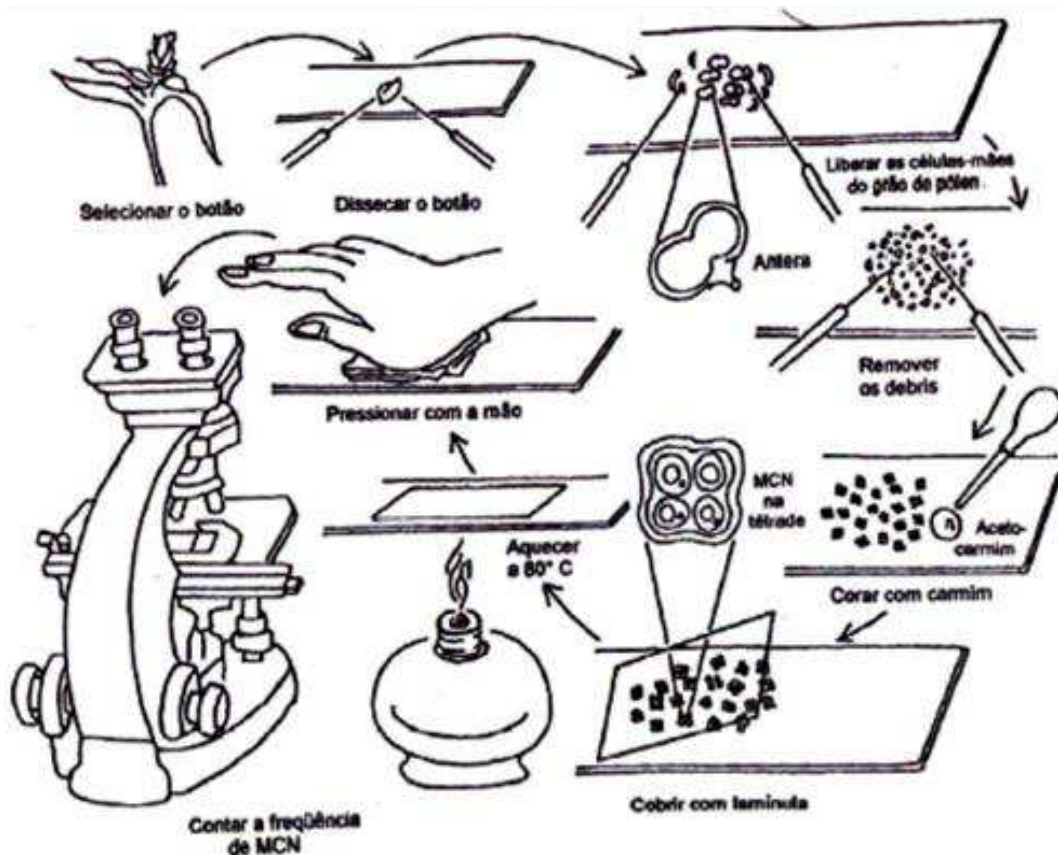


Figura 11: Esquema da técnica de preparo das lâminas.
Fonte: Ma, 1981, com adaptações.

4.3.1. MATERIAIS UTILIZADOS NA PREPARAÇÃO CITOLÓGICA

Estão listados abaixo os materiais utilizados na confecção das lâminas (**Figura 12**).

- Solução de orceína acética (2g de orceína em ácido láctico 45% e ácido acético glacial 55%);
- Explorador odontológico;
- Pinça de ponta fina;
- Lâminas;
- Lamínulas;
- Microscópio óptico (marca OLYMPUS, modelo CBA);
- Placa de Petri;
- Bico de bunsen;
- Pipeta Pasteur;
- Esmalte incolor;
- Papel absorvente;
- Espátulas metálicas de ponta fina.



Figura 12: Materiais utilizados na confecção das lâminas.

4.5. ANÁLISE DA QUALIDADE DO AR

Os dados da qualidade do ar, com a quantificação de seus gases, foram gentilmente cedidos pelo Instituto Ambiental do Paraná, através dos boletins mensais de qualidade do ar.

Através dos dados dos boletins de qualidade do ar, fornecidos pelo IAP, foi avaliada a possível correlação entre os Índices de Qualidade do Ar, das estações de monitoramento atmosférico de Santa Cândida e Ouvidor Pardinho, com a frequência de micronúcleos.

Os IQA de Santa Cândida serão correlacionados com a frequência de micronúcleos do Ponto Controle; e os IQA da Praça Ouvidor Pardinho serão relacionados com a frequência de micronúcleos dos pontos 1, 2 e 3 da Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

4.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi feita através de teste não-paramétrico, pois não há distribuição normal na população estudada (REIS, JUNIOR, 2007).

As frequências de micronúcleos dos pontos de exposição, incluindo o ponto de controle durante os meses considerados (abril a junho de 2011) foram comparados através de análise de variância não-paramétrica (teste de Kruskal Wallis) seguida de análise de comparações múltiplas (teste Student Newman Keuls), para a identificação da significância estatística. Foi fixado nível de significância de 5% em todos os testes estatísticos, utilizando para esta metodologia o programa Bioestat 5.0.

Os resultados observados foram demonstrados através de tabelas, contendo os valores das estatísticas descritivas: média, mediana, desvio padrão, mínimo e máximo.

5.RESULTADOS E DISCUSSÕES

Através dos dados dos boletins de qualidade do ar, foram retiradas as médias dos IQA dos gases SO₂, NO₂ e O₃. No **Gráfico 1** as médias do IQA dos gases SO₂, NO₂ e O₃ dos meses de abril a junho estão dispostas em forma de barras, para comparação entre as duas estações.

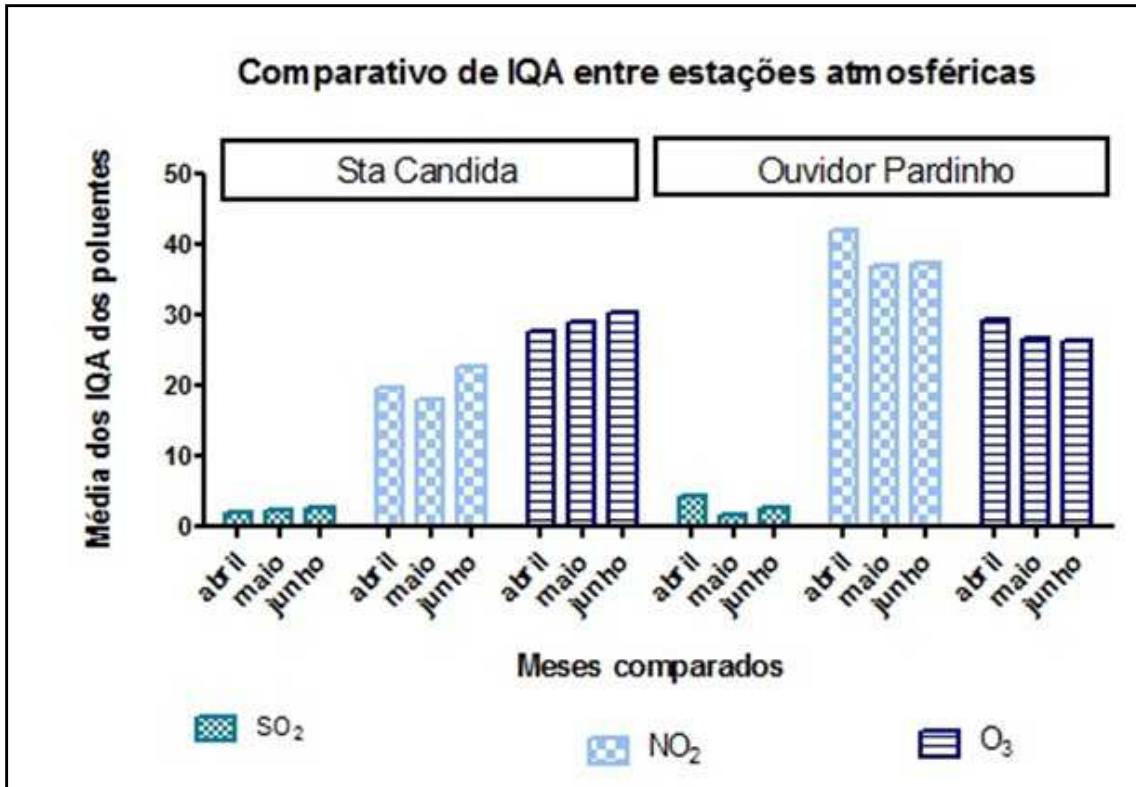


Gráfico 1: Média dos IQA dos poluentes atmosféricos das estações Santa Cândida e Ouvidor Pardinho nos meses de abril, maio e junho

A média do IQA para ozônio foi maior na estação atmosférica de Santa Cândida para os meses de maio e junho, sendo que no mês de abril foi observado um aumento do IQA para ozônio na estação Ouvidor Pardinho. Para o dióxido de nitrogênio (NO₂), a média dos índices foi maior na estação Ouvidor Pardinho nos três meses avaliados; o IQA para dióxido de enxofre (SO₂) se manteve baixo na estação de Santa Cândida, enquanto que na estação Ouvidor Pardinho o índice deste poluente foi observado com elevação em relação a outra estação apenas no mês de abril.

Nas **Figuras 13, 14 e 15** observam-se tétrades sem alteração e com micronúcleos, respectivamente.

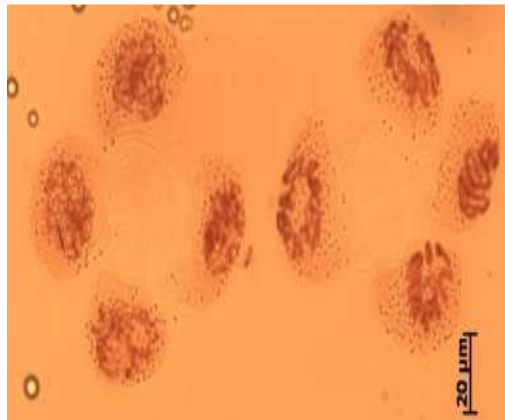


Figura 13: Tétrades sem alteração - aumento de 200x.



Figura 14: Tétrade com micronúcleo - aumento de 400X.

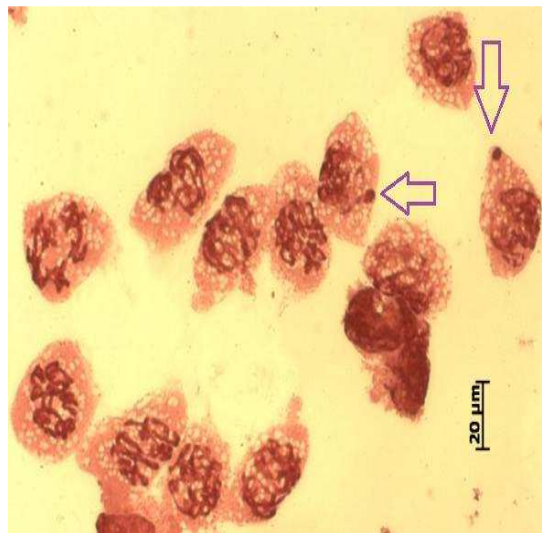


Figura 15: Tétrades com micronúcleos - aumento de 200X

A **Tabela 2** demonstra as frequências médias de micronúcleos, desvio padrão, medianas, máximos e mínimos observados para o grupo controle e pontos de exposição 1, 2 e 3. Observa-se, através destes dados, o aumento na média do número de micronúcleos quando compara-se os pontos de exposição (pontos 1, 2 e 3) e o grupo controle.

Tabela 2: Frequências médias de micronúcleos no período de exposição considerado.

	CONTROLE	PONTO 1	PONTO 2	PONTO 3
MN±DP	2,5±1,93	13,22±1,3	13±2,76	13,44±3,17
Mediana	2	13	13	14
Máximo	6	15	16	18
Mínimo	0	11	8	9

De acordo com o teste estatístico Kruska-Wallis, não houve diferença significativa entre os meses de abril, maio e junho para o Ponto Controle ($p = 0,46$), Ponto 1 ($p = 0,39$), Ponto 2 ($p = 0,08$) e Ponto 3 ($p = 0,24$). Entretanto, quando se compara o Ponto Controle com o Ponto 1 ($p = 0,0001$) e o Ponto Controle com os Pontos 2 e 3 ($p < 0,0001$), obtêm-se diferenças estatísticas, as quais são reafirmadas com o teste Student–Newman–Keuls.

No **Gráfico 2** encontram-se relacionados os valores de mediana com os respectivos quartis obtidos através da análise estatística.

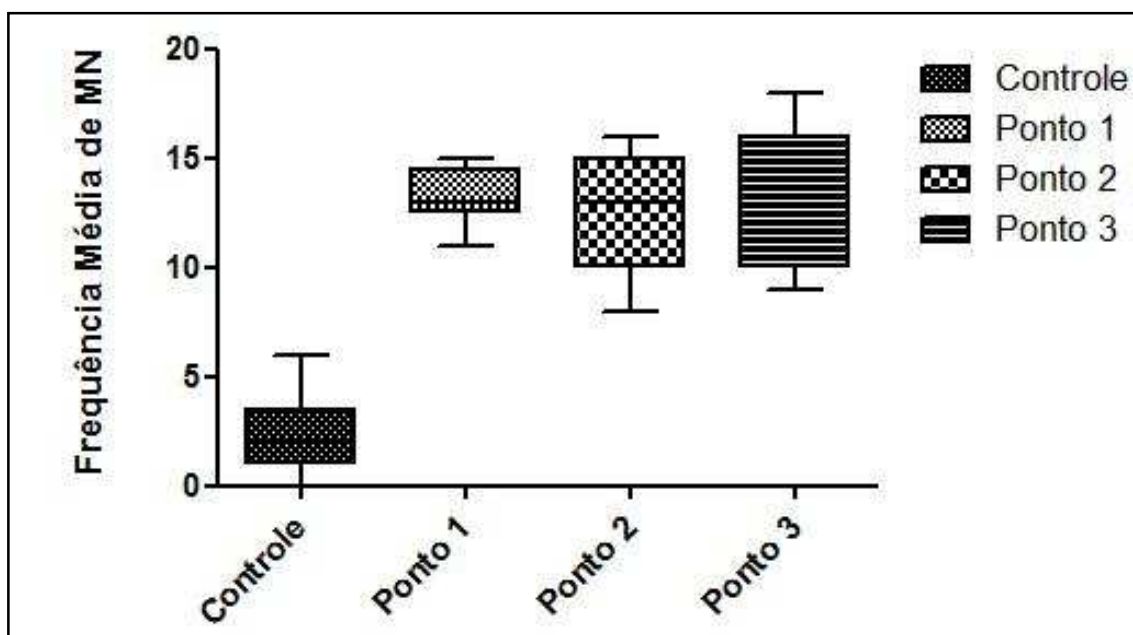


Gráfico 2: Mediana de micronúcleos com os respectivos quartis

Um fator importante e que deve ser considerado na dispersão dos poluentes atmosféricos é o perfil dos ventos na cidade. Com base em dados dos recentes dos últimos Relatórios de Qualidade do Ar, a direção predominantemente do vento é na direção Sudeste, este dado é baseado nos dados obtidos nas estações de monitoramento da qualidade do ar consideradas para este estudo.

Considerando-se a posição geográfica dos pontos de exposição e as respectivas estações de monitoramento ambiental, percebemos que os pontos encontram-se fora do sentido de dispersão dos poluentes. Sendo assim, há possibilidade de ser considerado que a elevação da frequência de micronúcleos nos pontos de exposição deve-se ao fato de não haver condições favoráveis de dispersão dos poluentes ambientais nos pontos analisados.

A dificuldade da dispersão dos poluentes ocorre principalmente no início do inverno (junho) onde ocorre com maior frequência a inversão térmica, diminuição da temperatura, e consequentemente a menor diluição dos gases na atmosfera.

A falta de dispersão de poluentes pode ser ratificada, inclusive, pela própria estrutura do local onde os pontos de exposição foram posicionados. Como exemplo, o ponto 3 (**Figura 4**), localizado na entrada do bloco Q da UTFPR, tem sua parte superior coberta, dificultando a incidência dos raios solares e a dispersão dos gases atmosféricos que circulam localmente.

Outro fator que justifica os resultados apresentados na **Tabela 2** são os índices de qualidade do ar, obtidos através dos boletins de qualidade do ar, emitidos pelo IAP. Durante os meses de maio e junho, a IQA foi enquadrado na categoria BOA para a Estação de Monitoramento de Qualidade do ar de Santa Cândida, enquanto que a Estação Monitoramento de Qualidade do ar da Praça Ouvidor Pardinho foi enquadrada na categoria REGULAR por cinco vezes no mês de maio e por dez vezes no mês de junho.

Nos meses de abril a junho, o poluente NO₂ foi o responsável pelo enquadramento da estação localizada na Ouvidor Pardinho na categoria REGULAR, sendo que no mês de maio, segundo o boletim de qualidade do ar, este poluente foi o único responsável relatado. No mês de junho havia além NO₂, o qual foi por nove vezes relatado nos boletins de qualidade do ar, outros componentes atmosféricos responsáveis pela má qualidade do ar como material particulado e O₃.

Os resultados obtidos neste trabalho estão em concordância com àqueles relatados por Guimarães et al (2000), Silva (2005), Savóia (2007), Junior e Kerr (2008) e Zanato (2009).

Guimarães et al (2000), em seu estudo de detecção de genotoxicidade, utilizando *T. pallida* associada a poluentes do ar da cidade de São Paulo, constatou que a frequência de micronúcleos aumenta da região mais afastada da cidade (zona rural) para o centro da cidade.

Silva (2005), em seu estudo sobre efeitos genotóxicos em tétrades de *Tradescantia pallida* induzidos por poluentes atmosféricos na cidade de Salvador, também observou um alto índice de micronúcleos em plantas do canteiro localizado no Vale de Nazaré, onde há um maior tráfego de veículos, comprovando que a emissão de poluentes para a atmosfera é sensivelmente maior nestes locais.

Savoia (2007), em seu estudo atmosférico na cidade de Santo André, constatou uma grande variabilidade na frequência de micronúcleos, entretanto não houve padrões evidentes de variação que possam indicar fontes de contaminação ambiental, isto possivelmente é justificado pelo caráter generalista do da *T. pallida*.

Campos Júnior e Kerr (2008), em seu estudo na cidade de Uberlândia, demonstrou um significativo incremento nas taxas de mutação nas localidades onde as plantas foram diretamente expostas a situações de tráfego intenso. Foi obtida uma correlação linear entre os

eventos mutagênicos observados e os índices de material particulado, parâmetro analisado simultaneamente nesse trabalho.

Zanato (2009), em sua campanha de biomonitoramento em São José dos Campos, durante o ano de 2008, verificou que os maiores índices de micronúcleos foram caracterizados em concordância com os maiores índices de poluição. A autora encontrou para este biomonitoramento valores na ordem de 1/3 dos valores obtidos para São Paulo com Sant`Anna (2003).

7 CONCLUSÃO

Através dos resultados obtidos no presente trabalho, foi comprovada diferença estatisticamente significativa entre o ponto controle e os pontos de exposição, podendo ser atestado dessa forma diferenças na qualidade atmosférica dos dois locais estudados.

Foi possível obter correlação entre os IQA da estação Ouvidor Pardinho e a taxa de micronúcleo observada nos pontos 1, 2 e 3, os quais mostraram-se significativamente maiores que os do ponto controle.

A proposta experimental deste trabalho contribuiu com o desenvolvimento de um modelo biológico de monitoramento da qualidade atmosférica, que poderá ser continuamente utilizado no laboratório de biologia desta Instituição.

REFERÊNCIAS

ACETO, Maurizio, ABBOLINO, Ornella; CONCA, Raffaele, MALANDRINO, Mery; MENTASTI, Edoardo; SARZANINI, Corrado. The use of mosses as environmental metal pollution indicators. **Chromosphere**, 2003. V. 50, 2002.

ADAMO, P.; GIORDANO, S. VINGIANI, S.; COBIANCHI, R. C.; VIOLANTE, P.. Trace element accumulation by moss and lichen exposed in bags in the city of Naples (Italy). **Environmental Pollution**, V. 122, 2002.

ALVES, Nilmara O. de. **Genotoxicidade e composição do material particulado emitido pela queima de biomassa: um estudo de caso me Tangará da Serra, região da Amazônia brasileira**. 2010. 82f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2010.

ALVES, Edenise, S. et al., Estudo anatômico foliar do clone híbrido 4430 de *Tradescantia*; alterações decorrentes da poluição aérea urbana. **Revista Brasileira de Botânica**, V.24 nº4 (suplemento), São Paulo dez 2001.

BAIRD, COLIN. **Química Ambiental**. 2ª edição. Porto Alegre: BOOKMAN, C2002. 622p.

BRAGA, Benedito et al. **Introdução à Engenharia Ambiental**. 2ª edição. São Paulo, SP 2005.

CAMPOS JUNIOR, E.O.; KERR, W. E. Teste de micronúcleo com *Tradescantia pallida* aplicado ao Biomonitoramento da qualidade do ar da cidade de Uberlândia. **Revista Horizonte Científico**, V. 01 nº 11, 2009.

CARNEIRO, Regina, A. A. **Bioindicadores vegetais de poluição atmosférica: uma contribuição para a saúde da comunidade**. 2004, 169f. Dissertação (Mestrado em enfermagem e saúde pública) – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2004.

CONAMA 1990. Resolução nº 3, de 28/09/1990. Ministério do Meio Ambiente.

DANNI-OLIVEIRA, I. M. Aspectos climáticos de Curitiba/PR: uma contribuição para o ensino médio. **RA'E O espaço geográfico em análise**. Curitiba, nº 03, 1999.

FALLA, J., LAVA-GILLY, HENRYON, M. MARLOT, D& FERRARD, J.F. Biological air quality monitoring: a review. **Environmental Monitoring and Assessment** V. 64, 2000.

GARTY, Jacob; TOMER, Sharon; LEVIN, Tal; LEHR Haya. Lichens as biomonitors around a coal-fired power station in Israel. **Environmental research** V. 91, 2002.

GUIMARÃES, E. T. et al. Detection of the genotoxicity of air pollutants in and around the city of São Paulo (Brazil) with the *Tradescantia*– micronucleus (Trad – MCN) assay. **Environmental and Experimental Botany**, nº 44, 2000.

INSTITUTO AMBIENTAL DO PARANÁ. **Relatório da qualidade do ar na região metropolitana de Curitiba, Ano de 2008**.

INSTITUTO AMBIENTAL DO PARANÁ. **Relatório da qualidade do ar na região metropolitana de Curitiba, Ano de 2009.**

INSTITUTO AMBIENTAL DO PARANÁ. **Relatório da qualidade do ar na região metropolitana de Curitiba, Ano de 2010.**

JOLY, Aylton, B. **Botânica: Introdução a taxonomia vegetal.** 4ª edição, São Paulo, 1977.

JUNIOR, José, R. **Efeitos da poluição atmosférica na área do aeroporto de Internacional de São Paulo - Guarulhos sobre ensaio de bioindicadores vegetais.** 2008. 112f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

KAWANO, Mauricy. **Apostila Poluição Atmosférica – Qualidade do ar.** Revisão 07. SENAI-CIC. Curitiba, 2003.

KLUMPP, A. Utilização de bioindicadores de poluição em condições temperadas e tropicais. In: N. B. M. Maia, H. L.; Barella, W. (Ed.). **Indicadores ambientais: conceitos e aplicações.** São Paulo: Educ/Comped/Inep, p.77 – 94. Utilização de bioindicadores de poluição atmosférica em condições temperadas e tropicais. 2001.

KLUMPP, Andreas et al., Um novo conceito de monitoramento e comunicação ambiental: a rede européia para avaliação da qualidade do ar usando plantas bioindicadoras (EuroBionet). **Revista Brasileira Botânica**, V. 24, nº4 (suplemento), São Paulo, dez. 2001.

LEMOS, Clarice, T.; TERRA, Nara, R. Poluição – Causas, Efeitos e Controle. In: J. Silva; B. Erdtmann; J. A. P. Henriques. **Genética Toxicológica.** Porto Alegre: Alcance, 2003.

LIMA, Elizabeth, S. de. **Capacidade de *Tradescantiapallida*(ROSE) DR Hunt cvPurpurea Boom para biomonitoramento do potencial clastogênico do ozônio.** 2007. 128f. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade vegetal e meio ambiente) – Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente, São Paulo, 2007.

LIMA, Josanidia, S. A. Utilização de bioindicadores de poluição em condições temperadas e tropicais. In: N. B. M. Maia, H. L.; Barella, W. (Ed.). **Indicadores ambientais: conceitos e aplicações.** São Paulo: Educ/Comped/Inep, Processos biológicos e o biomonitoramento, 2001.

LOBO, Débora-Jã, A de. **Manual prático para utilização de Tradescantia como biomonitor&bioacumulador, *Allium cepa* L. (cebola) e pollenabortion.** , 2009.

Ma, Te-Hsiu. Tradescantia Micronucleus Bioassay and Pollen Tube Chromatid Aberration Test for *in Situ* Monitoring and Mutagen Screening. **Environmental Health Perspectives.** Vol. 37, 1981.

MACHADO, Alessandra, E., F., C. **Avaliação da viabilidade de utilização de *Tradescantiapallida* cv. Purpurea no biomonitoramento de fontes estacionárias de contaminação atmosférica.** 2008 104f. Tese (Doutorado em biodiversidade vegetal e meio

ambiente) – Área de concentração de plantas vasculares em análises ambientais – Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente, São Paulo, 2008.

MARKERT, B. A. **Plants as biomonitors: Indication for heavy metals in the terrestrial environment.** Weinheim, VHC 1993

MENDONÇA, Francisco. Aspectos da problemática ambiental urbana da cidade de Curitiba/PR e o mito da “capital ecológica” **GEOUSP – Espaço e Tempo**, nº 12, São Paulo, 2002.

MILLER, Tyler, G. **Ciência ambiental.** Tradução da 11ª edição norte-americana. São Paulo, 2011.

OGA, SEIZI; CAMARGO, MARCIA A.; BATISTUZZO, JOSÉ A. O. **Fundamentos de toxicologia.** 3ª edição. São Paulo, SP: Atheneu, 2008. 677p.

PEDROSO, Andrea N. V. **Avaliação estrutura de *Nicotianatabacum* “Bel W3” sob diferentes níveis de contaminação atmosférica.** 2006. 68f . Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente) – Área de concentração de plantas vasculares em Análises Ambientais. Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente, São Paulo, 2006.

RAVEN, Peter H.; EVERT Ray, F. EICHHORN, Susan, E. **Biologia Vegetal.** 5ª edição, Guanabara, Rio de Janeiro, 1996.

RIBEIRO, Lucia R. Teste do micronúcleo em medula óssea de roedores *in vivo*. In L.R. Ribeiro, D. A. F. Salvadori e E. K. Marques. **Mutagênese ambiental** Ulbra. Canoas. 2003 356p.

REIS, Gustavo, M.; JÚNIOR, José, I. R. Comparação de testes paramétricos e não paramétricos aplicados em delineamentos experimentais. III SAEPRO, 2007.

RODRIGUES, Geraldo, S. Bioensaios de toxicidade genética com *Tradescantia*. Centro Nacional de Pesquisa e Monitoramento e Avaliação de Impacto Ambiental. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA [1999?].

SAVÓIA, Eriane, L. J. **Potencial de *Tradescantiapallida* 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.** 2007 118f. Dissertação (Mestrado em Ciências). Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – Área de concentração de Fisiopatologia experimental, São Paulo, 2007.

SILVA, Joseli, S. **Efeitos genotóxicos em tétrades de *Tradescantiapallida* (Rose) D. R. Hunt var. *purpurea* induzidos por poluentes atmosféricos na cidade de Salvador – BA.** 2005 49f. Monografia (Bacharel em Ciências Biológicas) – Área de Concentração de genética. Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2005

SISENANDO, H.A., BATISTUZZO DE MEDEIROS, S. R., HACON, S.S., *Tradescantiapallida*: Mais do que uma linda flor, um importante bioindicador da qualidade ambiental. **Genética na escola**, V. 04,02;2009.

SILVA, Juliana da, HEUSER, Vanina, ANDRADE, Vanessa. Biomonitoramento Ambiental. In: J. Silva; B. Erdtmann; J. A. P. Henriques. **Genética Toxicológica**. Porto Alegre: Alcance, 2003.

SILVA, Juliana; FONSECA Miriam B. da. Estudos Toxicológicos no Ambiente e na saúde humana. In: J. Silva; B. Erdtmann; J. A. P. Henriques. **Genética Toxicológica**. Porto Alegre: Alcance, 2003.

TEMMERMAN, L. De; BELL, N. B.; GARREC, J. P.; KLUMPP, A.; KRAUSE, G.H.M.; TONNEIJCK, A.E.G. Biomonitoring of air pollutants with plants consideration for the future. IN: **Urban air pollution, bioindication and environmental Awareness** KLUMPP, A.; ANSEL, W.; KÇUMPP, G. Gottingen: Cuvillier Verlag, 2004.

ZANATO, Victória T. de A. B. **Biomonitoramento no município de São José dos Campos, utilizando *Tradescantia pallida* – campanha 2008** – Julho, 2009.