



ARTIGO

Avaliação da influência do tempo de exposição de *Tradescantia pallida* var. *purpurea* para biomonitoramento da genotoxicidade do ar atmosférico

Gustavo Marques da Costa^{1,2}, Mara Betânia Brizola Cassanego^{1,2}, Camila Tamires Petry¹, Márcio Hisayuki Sasamori^{1,2}, Delio Endres Júnior^{1,2} e Annette Droste^{1,2*}

Recebido: 2 de abril de 2015 Recebido após revisão: 15 de outubro de 2015 Aceito: 20 de outubro de 2015
Disponível on-line em <http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/3348>

RESUMO: (Avaliação da influência do tempo de exposição de *Tradescantia pallida* var. *purpurea* para biomonitoramento da genotoxicidade do ar atmosférico). *Tradescantia pallida* (Rose) D.R. Hunt var. *purpurea* Boom é utilizada para avaliação da genotoxicidade do ar atmosférico, devido à formação de micronúcleos (MCN) em tétrades meióticas após exposição aguda. O estudo visou a investigar se existe relação quantitativa entre a formação de micronúcleos e o número de horas de exposição aguda dos ramos com botões florais ao ar, em ambiente natural bem como em condições controladas. No bioensaio I, ramos contendo botões florais foram expostos por 8, 24 ou 32 h ao ar em São Leopoldo, Sul do Brasil, e em ambiente fechado, de abril de 2012 a janeiro de 2013, com periodicidade trimestral. No bioensaio II, a exposição de ramos com botões florais por 8 h ao ar em São Leopoldo e em ambiente fechado se deu de maio de 2013 a fevereiro de 2014, a cada trimestre. A formação de MCN não se relacionou com o tempo de exposição, pois não foram verificadas diferenças significativas entre as frequências de MCN observadas nos botões florais expostos por 8, 24 ou 32 h ao ar em São Leopoldo (médias de 4,8; 4,8 e 4,2), bem como no ambiente fechado (médias de 1,6; 1,5 e 1,3). Os botões florais expostos por 8 h apresentaram frequências de MCN significativamente superiores (1,6 a 7,8) àquelas do controle negativo (1,2 a 2,0) em seis das oito exposições, evidenciando a genotoxicidade do ar em São Leopoldo. Aponta-se para a importância do bioensaio de MCN em *T. pallida* var. *purpurea* para compor diagnósticos ambientais.

Palavras-chave: biomonitor, bioensaio *Tradescantia*, qualidade do ar, risco genotóxico, micronúcleos.

ABSTRACT: (Assessing the influence of time of *Tradescantia pallida* var. *purpurea* exposure for biomonitoring the atmospheric air genotoxicity). *Tradescantia pallida* (Rose) D.R. Hunt var. *purpurea* Boom is used to assess the genotoxicity of the atmospheric air, due to the micronuclei (MCN) formation in meiotic tetrads after acute exposure. The study aimed to investigate if there is a quantitative relation between MCN formation and the number of hours of acute exposure of cuttings with flower buds to the air, in a natural environment, as well as under controlled conditions. In bioassay I, cuttings with flower buds were exposed for 8, 24 or 32 h to the air in São Leopoldo, Southern Brazil, and indoor, from April 2012 to January 2013, in a quarterly period. In bioassay II, the exposure of cuttings with flower buds for 8 hours to the air in São Leopoldo and indoor was from May 2013 to February 2014, quarterly. The MCN formation had no relation with the time of exposure, because there were no verified significant differences between the MCN frequencies observed in the flower buds exposed for 8, 24 or 32 h to the air in São Leopoldo (means of 4.8, 4.8 and 4.2), as well as the ones observed indoor (means of 1.6, 1.5 and 1.3). The inflorescences exposed for 8 h showed significantly higher MCN frequencies (1.6 to 7.8) to the ones of the negative control (1.2 to 2.0) in six out of eight exposures, evidencing the genotoxicity of the air in São Leopoldo. We point to the importance of the MCN bioassay of *T. pallida* var. *purpurea* to compose environmental diagnostics.

Key words: biomonitor, *Tradescantia* bioassay, air quality, genotoxic risk, micronuclei.

INTRODUÇÃO

O biomonitoramento ativo é uma ferramenta utilizada para a avaliação da qualidade do ar de ambientes com diferentes magnitudes de impactos ambientais e consiste na análise sistemática das respostas de organismos introduzidos de forma padronizada no ambiente natural por determinado período (Markert *et al.* 2007). O bioensaio de micronúcleos em *Tradescantia* L. (bioensaio Trad-MCN), descrito por Ma *et al.* (1978) para o clone 4430, é fundamentado na contagem de micronúcleos (MCN) formados em células-mãe dos grãos de pólen e visualizados no estágio de tétrades resultantes do processo meiótico.

Os danos cromossômicos ocorrem na prófase I, estágio meiótico que apresenta alta sensibilidade a agentes genotóxicos (Ma 1982). Os MCN são estruturas provenientes de cromossomos inteiros ou de fragmentos cromossômicos que se perdem na divisão celular e, por isso, não são incluídos no núcleo das células filhas, permanecendo no citoplasma das células interfásicas (Ma 1983). Para que uma estrutura cromatínica seja considerada como MCN, deve apresentar diâmetro inferior a um terço do núcleo, estar separada deste e possuir coloração semelhante ao mesmo (Grisolia 2002).

A maioria dos estudos de biomonitoramento ativo da genotoxicidade do ar atmosférico com *Tradescantia*

1. Universidade Feevale, Laboratório de Biotecnologia Vegetal. Rod. RS-239 2755, CEP 93525-075, Novo Hamburgo, RS, Brasil.

2. Universidade Feevale, Programa de Pós-graduação em Qualidade Ambiental. Rod. RS-239 2755, CEP 93352-000, Novo Hamburgo, RS, Brasil.

* Autor para contato. E-mail: annette@feevale.br

utilizam plantas em vasos que são levados às áreas a serem avaliadas para um período de exposição que varia de algumas horas a meses (Guimarães *et al.* 2000, Prajapati & Tripathi 2008, Carreras *et al.* 2009, Savóia *et al.* 2009, Costa & Droste 2012, Santos *et al.* 2015). Porém, uma metodologia alternativa de exposição de ramos com inflorescências, descrita por Ma *et al.* (1994) para o clone 4430 de *Tradescantia*, oferece praticidade no caso de exposição aguda, dentro do curto espaço de tempo necessário para que as células reprodutivas em prófase I completem o processo meiótico, que é de 24 a 30 horas (Ma 1983). Estudos posteriores, utilizando ramos de plantas clone 4430 (Klumpp *et al.* 2002, Klumpp *et al.* 2006) e *Tradescantia pallida* (Rose) D.R. Hunt var. *purpurea* Boom (Sasamori *et al.* 2012, Blume *et al.* 2014) confirmaram a aplicabilidade deste bioensaio para o monitoramento do ar. Porém, se a exposição for de apenas algumas horas, deve haver um período de recuperação dos ramos para permitir que as células que iniciaram a meiose durante o período de exposição atinjam o estágio de tétrade (Ma 1983).

São Leopoldo é um município do Rio Grande do Sul, estado do extremo sul do Brasil, e pertence à região metropolitana da capital Porto Alegre. A taxa de urbanização de São Leopoldo, que possui aproximadamente 226 mil habitantes, é de 99,7%. A metalurgia é o segmento que se destaca entre as 406 indústrias. A frota automotiva é de cerca de 104.100 veículos e o tráfego veicular é intenso, especialmente porque o município é transpassado pela rodovia federal BR 116, principal via de acesso da capital aos demais municípios da região (FEE 2015, IBGE 2015).

O ar atmosférico nas regiões com aglomeração urbana é geralmente contaminado por uma variedade de poluentes originados de fontes estacionárias e móveis (Guimarães *et al.* 2000, Teixeira *et al.* 2012). O intenso tráfego de veículos é apontado como principal fonte de emissão de monóxido de carbono, hidrocarbonetos, óxidos de nitrogênio e enxofre, bem como material particulado (Teixeira *et al.* 2008; Santos *et al.* 2015). A mistura complexa de poluentes é responsável pelo potencial genotóxico do ar atmosférico, que pode afetar os organismos (Savóia *et al.* 2009).

O presente estudo visou a: (a) investigar sazonalmente, durante um ano, a influência de diferentes tempos de exposição aguda de ramos com inflorescências ao ar atmosférico sobre a formação de MCN em *Tradescantia pallida* var. *purpurea*, tanto em ambiente natural bem como em condições controladas e (b) aplicar o bioensaio Trad-MCN para monitorar o potencial genotóxico do ar atmosférico no centro urbano do município de São Leopoldo. As hipóteses foram de que: (a) o número de MCN formados nos ramos expostos ao ar não é maior quando o tempo de exposição aguda é aumentado, e (b) as frequências de MCN observadas nas tétrades indicam genotoxicidade do ar atmosférico no centro urbano deste município.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo

O estudo foi realizado no município de São Leopoldo, Rio Grande do Sul, Brasil, no período de abril de 2012 a fevereiro de 2014, totalizando oito amostragens. O ponto amostral do bioensaio I se localizou na Avenida João Corrêa (29°45'11"S e 51°09'08"W, altitude de 10 m), uma das principais vias do centro urbano do município, a uma distância de 250 m da rodovia BR 116. O ponto amostral do bioensaio II se localizou na rótula entre as avenidas João Corrêa e São Borja (29°45'33"S e 51°09'61"W, altitude de 25 m), que apresenta intenso fluxo veicular, a uma distância de cerca de 2 km da rodovia BR 116 (Fig. 1).

Material biológico

As plantas de *Tradescantia pallida* var. *purpurea* das quais foram obtidos os ramos utilizados para os bioensaios foram cultivadas em vasos plásticos (37 cm x 20 cm x 20 cm) contendo 4 kg de solo comercial, mantidos em ambiente externo, no campus da universidade. As plantas foram regadas três vezes por semana e mensalmente foram aplicados 100 mL de solução de fertilizante N:P:K (nitrogênio:fósforo:potássio) na proporção de 10:10:10 (g/m²: g/m²: g/m²) (Thewes *et al.* 2011). Todas as plantas derivaram de propagação vegetativa.

Bioensaios Trad-MCN

Bioensaio I

O bioensaio I foi realizado de abril de 2012 a fevereiro de 2013. Para cada exposição, vinte ramos (comprimento



Figura 1. Localização dos pontos amostrais dos bioensaios 1 (●) e 2 (▲) no município de São Leopoldo, Rio Grande do Sul, Brasil.

de 15 cm) (Fig. 2), com inflorescências em estágio de botões florais (Fig. 2), uma de cada planta, foram parcialmente imersos em recipientes contendo 2 L de água destilada e permaneceram por 24 horas para adaptação em condições controladas, em laboratório, a temperatura de 26 ± 1 °C (Cassanego et al. 2014). Três tempos de exposição dos ramos ao ar foram testados, levando em consideração o tempo de meiose em *Tradescantia*, da prófase I ao estágio de tétrades, que é de 24 a 30 horas (Fig. 3), conforme Ma (1983): 8 horas (T1: das 9 h às 17 h), 24 horas (T2: das 9 h às 9 h do dia seguinte) e 32 horas (T3: das 9 h às 15 h do dia seguinte). Para tanto, ramos parcialmente submersos em recipientes contendo 2 L de água destilada foram transportados em caixas térmicas ao ponto amostral, onde foram expostos ao ar atmosférico. Simultaneamente, foram realizadas exposições de ramos ao ar, pelos mesmos tempos, em condições controladas (controle negativo), no laboratório.

Aqueles ramos que haviam sido expostos por 8 horas ao ar no ambiente externo bem como no laboratório foram recuperados em recipientes com 2 L de água destilada durante 24 horas nas mesmas condições controladas do período de adaptação para permitir a finalização do processo meiótico e a comparação com os demais tempos avaliados. Os ramos expostos por 24 e 32 horas não foram recuperados, considerando que a meiose deve estar completa ao final destes períodos (Ma 1983).

Bioensaio II

O bioensaio II foi realizado de maio de 2013 a fevereiro de 2014, para monitorar a genotoxicidade do ar atmosférico do ponto amostral no município de São Leopoldo. Para tanto, 20 ramos com inflorescências jovens foram coletados e mantidos em recipientes com 2 L de água destilada e levados para sala climatizada, sob luz natural e temperatura constante de 26 ± 1 °C, para

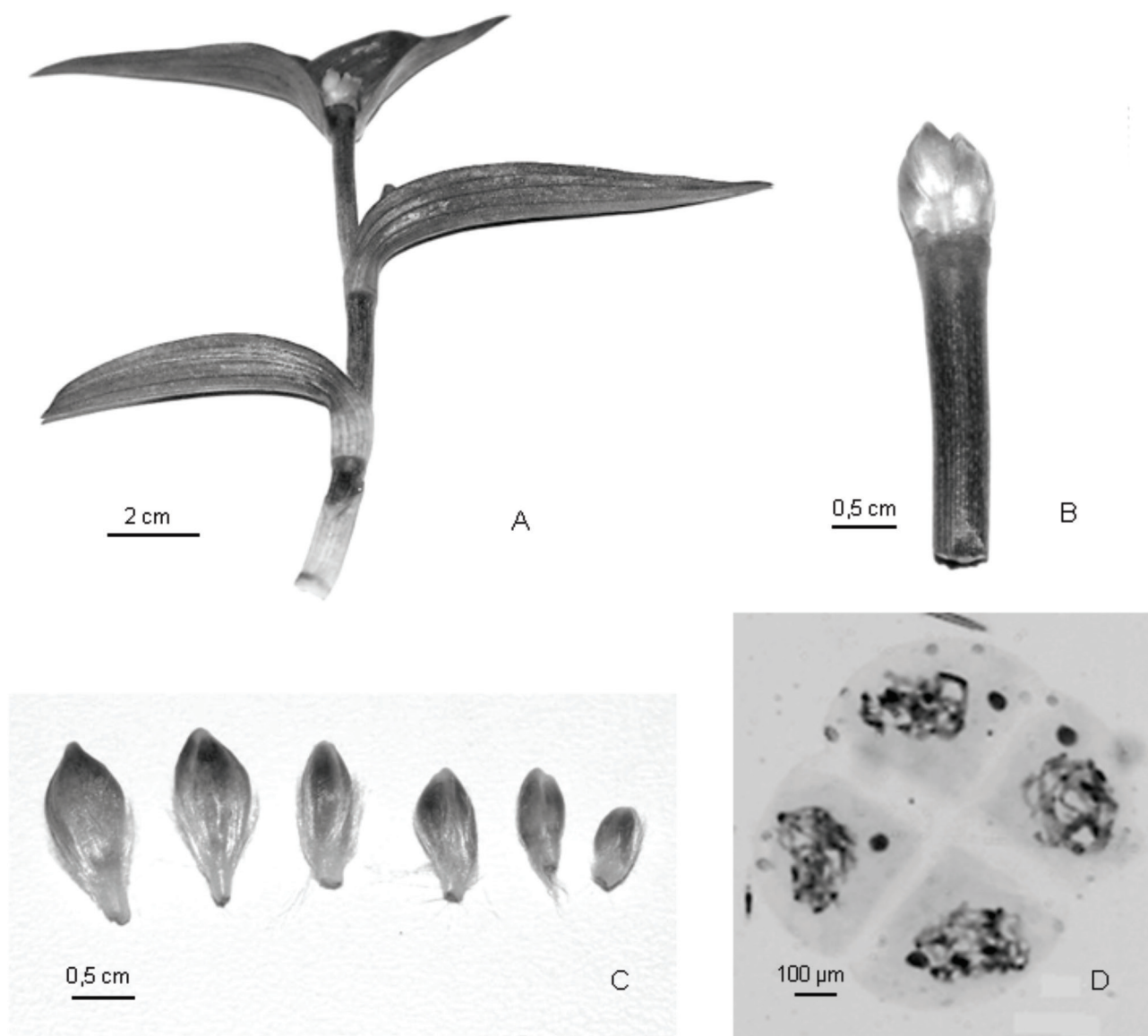


Figura 2. Estruturas de *Tradescantia pallida* var. *purpurea*. A. Ramo com inflorescência. B. Inflorescência. C. Botões florais. D. Tétrade com células apresentando micronúcleos.

adaptação por 24 horas (Cassanego *et al.* 2014). Posteriormente, a água destilada dos recipientes foi renovada e os ramos foram transportados em caixas térmicas até o ponto amostral, onde foram expostos por 8 horas (9 h às 17 h) ao ar atmosférico sob condições naturais. Após o período de exposição, os ramos foram recuperados em água destilada durante 24 horas em sala climatizada. Simultaneamente, controles negativos foram realizados em condições controladas, com temperatura de 26 ± 1 °C e sob luz natural, no laboratório.

Fixação das inflorescências, preparo das lâminas e contagem de micronúcleos

Após cada bioensaio, inflorescências com botões florais (Fig. 2) foram fixadas em etanol absoluto:ácido acético glacial (3:1; v:v) e, após 24 horas, foram transferidas para etanol 70 %, sendo mantidas sob refrigeração,

a 4 °C. Para a confecção das lâminas e a observação de micronúcleos foram utilizados 10 botões florais (Fig. 2) por exposição, um botão de cada planta. Para cada amostra, dez lâminas foram preparadas e 300 tétrades (Fig. 2) por lâmina foram observadas em microscopia óptica (Olympus CX31), aumento de 400 vezes, sendo registrado o número de micronúcleos encontrados (Thewes *et al.* 2011). As frequências de micronúcleos foram calculadas e expressas em termos de MCN/100 tétrades (Ma *et al.* 1994).

Análise estatística

A normalidade dos dados foi verificada por meio do teste de Shapiro-Wilk e a homogeneidade das variâncias, pelo teste de Levene. Para o bioensaio I, as frequências de MCN obtidas em cada amostragem nos diferentes tempos de exposição foram submetidas à análise de variância

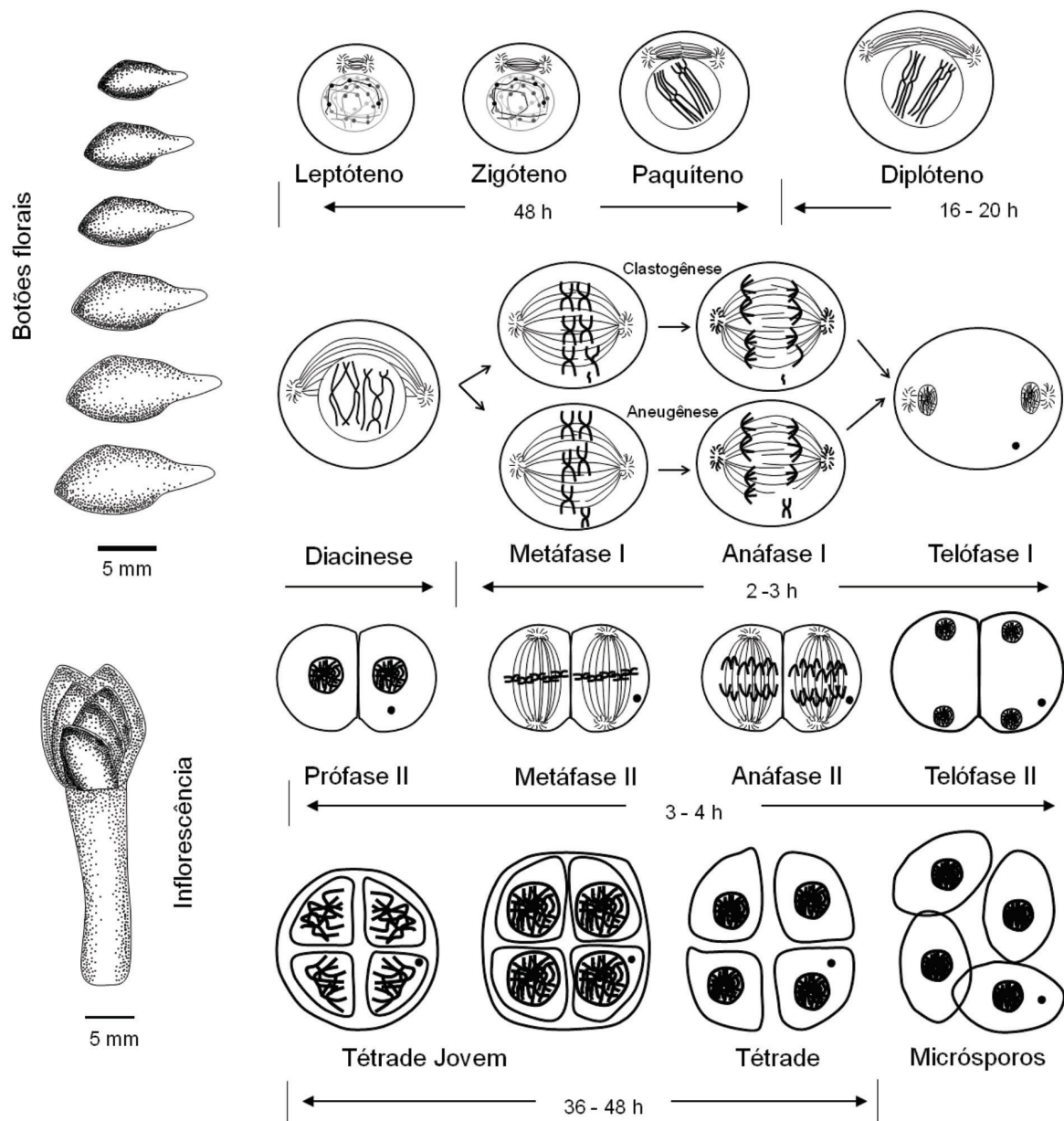


Figura 3. Estádios do processo meiótico em *Tradescantia* (Adaptado de Ma 1983).

(ANOVA) e diferenças entre médias foram testadas pelo teste de Tukey. Neste bioensaio, as frequências de MCN entre cada amostra e seu respectivo controle negativo foram comparadas pelo teste *t* de Student. As frequências de MCN obtidas para as amostragens de 8 h de exposição nos bioensaios I e II foram comparadas entre si por análise de variância (ANOVA), seguida do teste de Tukey, e em relação aos respectivos controles negativos, pelo teste *t* de Student. Para todas as análises estatísticas, foi utilizado o programa SPSS versão 20 para Windows, e o nível de significância foi fixado em 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No bioensaio I, não foram observadas diferenças significativas entre as frequências de micronúcleos registradas nos botões florais de *T. pallida* expostos por diferentes tempos ao ar atmosférico no município de São Leopoldo. As médias anuais foram de 4,80, 4,88 e 4,20 MCN para as exposições de 8, 24 e 32 horas, respectivamente. Em condições controladas, a formação espontânea de MCN também não diferiu significativamente entre os tempos de exposição, com frequências médias anuais de 1,65, 1,55 e 1,35 MCN para as exposições de 8, 24 e 32 horas (Tab. 1). Frequências de até 2,0 MCN, como observadas nos controles negativos neste estudo, são consideradas resultantes de mutações espontâneas que podem ocorrer na espécie também quando as plantas são mantidas em ambiente não poluído (Pereira et al. 2013). A influência do tempo de exposição de ramos de *T. pallida* foi avaliada por Cassanego et al. (2014) em um estudo de biomonitoramento de água do Rio dos Sinos, no Rio Grande do Sul, também não tendo sido observadas diferenças significativas entre as frequências de MCN observadas após 8, 24 e 32 h de exposição, tanto à água do rio bem como à água destilada, utilizada como controle negativo.

Nos bioensaios com exposição aguda de *T. pallida* ao ar atmosférico, os ramos precisam estar adequadamente hidratados. Solução nutritiva de Hoagland (Ma et al. 1994, Klumpp et al. 2004) e água destilada (Monarca et al. 2001, Blume et al. 2014) são utilizadas como meio

líquido no qual os ramos permanecem parcialmente submersos durante os períodos de adaptação, exposição e recuperação. No presente estudo, foi utilizada água destilada, com base nos resultados obtidos por Cassanego et al. (2014), que relataram que as frequências de MCN observadas em botões florais de ramos de *T. pallida* mantidos em água destilada e em solução de Hoagland em condições controladas não foram significativamente diferentes.

Comparando as frequências de MCN registradas nos botões florais expostos ao ar em São Leopoldo durante o bioensaio I com aquelas obtidas nos respectivos controles negativos, as primeiras foram significativamente superiores em todos os meses e tempos de exposição avaliados, com exceção de junho de 2012, quando nas amostras de 8 horas de exposição, as frequências não diferiram (Tab. 1). Este resultado indicou que as células dos botões florais expostos ao ambiente urbano sofreram o efeito genotóxico das condições do ar atmosférico prevalentes no ponto amostral. Em bioensaios de exposição aguda, faz-se necessária uma etapa inicial de adaptação, na qual os ramos são mantidos por 24 horas parcialmente submersos em água destilada, em ambiente interno (condições controladas), antes do período de exposição, tal como adotado no presente estudo, seguindo metodologia descrita por Cassanego et al. (2014). Com esta etapa, evita-se que danos cromossômicos provocados por qualquer interferência ambiental no local de cultivo, portanto de origem anterior à exposição, sejam incluídos na avaliação da resposta de *T. pallida* (Ma et al. 1994, Klumpp et al. 2006).

Pelo fato de as frequências de MCN registradas nos diferentes tempos de exposição avaliados no bioensaio I não terem diferido significativamente, adotou-se o tempo de 8 h no bioensaio II, devido à praticidade metodológica. Isto propiciou a comparação dos dados dos dois bioensaios para o mesmo tempo de exposição, totalizando dois anos de biomonitoramento da genotoxicidade do ar em São Leopoldo. As frequências de MCN observadas ao longo deste período foram significativamente superiores

Tabela 1. Frequência de MCN (média $\pm$ desvio padrão) em botões florais de *Tradescantia pallida* var. *purpurea* expostos por 8, 24 e 32 h ao ar atmosférico no município de São Leopoldo e do controle negativo.

Tempo de exposição					
São Leopoldo	8 h	24 h	32 h	F	P
Abril 2012	7,80 $\pm$ 3,47*	7,00 $\pm$ 2,00**	5,47 $\pm$ 2,55*	0,935	0,420
Junho 2012	3,13 $\pm$ 1,46	4,20 $\pm$ 1,22*	4,40 $\pm$ 0,79**	1,634	0,236
Outubro 2012	3,13 $\pm$ 0,38**	2,93 $\pm$ 0,86*	2,93 $\pm$ 0,89*	0,118	0,889
Janeiro 2013	5,47 $\pm$ 1,09**	5,07 $\pm$ 1,60*	4,07 $\pm$ 0,72**	1,814	0,205
Média	4,88 $\pm$ 2,68	4,80 $\pm$ 2,04	4,22 $\pm$ 1,63		
Controle negativo	8 h	24 h	32 h	F	P
Abril 2012	2,00 $\pm$ 0,28	1,40 $\pm$ 0,43	1,47 $\pm$ 0,18	2,935	0,092
Junho 2012	1,80 $\pm$ 0,51	2,00 $\pm$ 0,94	1,33 $\pm$ 0,33	1,398	0,285
Outubro 2012	1,27 $\pm$ 0,37	1,27 $\pm$ 0,43	1,13 $\pm$ 0,38	0,190	0,829
Janeiro 2013	1,47 $\pm$ 0,56	1,53 $\pm$ 0,51	1,47 $\pm$ 0,38	0,031	0,969
Média	1,65 $\pm$ 0,59	1,55 $\pm$ 0,63	1,35 $\pm$ 0,33		

Asteriscos indicam diferenças significativas (* $P < 0,05$) e altamente significativas (** $P < 0,001$) entre as amostras de São Leopoldo e o controle negativo em cada mês e tempo avaliados, de acordo com o teste *t* de Student ($P = 0,05$).

em relação aos respectivos controles negativos, com exceção dos meses junho de 2012 e maio de 2013, quando não houve diferença significativa entre as frequências (Fig. 4). Frequências de MCN (4,77 a 8,28 MCN) similares às registradas no presente estudo foram observadas após exposição dos ramos por 24 horas em área urbana de Sapucaia do Sul, município também pertencente à região metropolitana de Porto Alegre, distante cerca de 14 km de São Leopoldo (Blume *et al.* 2014). O intenso tráfego de veículos automotores leves e pesados na rodovia federal BR 116 bem como indústrias inseridas na matriz urbana de Sapucaia do Sul foram apontados como fontes de poluição do ar provavelmente responsáveis pela formação de MCN em Sapucaia do Sul (Blume *et al.* 2014). Também na região metropolitana de Porto Alegre, Sasamori *et al.* (2012) verificaram frequências de MCN entre 2,9 e 4,3 em botões florais expostos sob condições naturais em um ponto amostral urbano no município de Novo Hamburgo. A região metropolitana é formada por 31 municípios, concentrando cerca de 36% da população do Estado Rio Grande do Sul (Teixeira *et al.* 2008). A qualidade do ar desta região é influenciada por emissões atmosféricas de diferentes origens, como refinaria de petróleo, complexo industrial petroquímico, siderúrgicas e termoeletricas, bem como a queima de combustíveis fósseis consequente do intenso tráfego veicular (Teixeira *et al.* 2012).

As altas frequências de MCN observadas no bioindicador utilizado no presente estudo podem estar relacionadas com os poluentes emitidos principalmente pelo intenso tráfego veicular de São Leopoldo, considerando que no município a frota é de 104.104 veículos (IBGE 2015) e também em função da proximidade da rodovia federal BR 116, principal via de ligação entre a capital e o ponto amostral, onde ocorre intenso fluxo veicular com aproximadamente 150 mil veículos/dia, liberando significativa

quantidade de poluentes atmosféricos (Migliavacca *et al.* 2012, Teixeira *et al.* 2012). Estudos utilizando plantas de *T. pallida* cultivadas em solo e transportadas em vasos para os ambientes a serem monitorados em grandes centros urbanos também evidenciam a genotoxicidade do ar atmosférico. No município de Santo André (São Paulo Brasil), foram registradas frequências de MCN de até 4,6 em áreas com tráfego intenso de carros e transporte público (Savóia *et al.* 2009). Pereira *et al.* (2013) verificaram frequências de até 5,0 MCN em áreas com diferentes intensidades veiculares em Uberlândia (Minas Gerais). No município de Ribeirão Preto (São Paulo), em três áreas com diferentes intensidades veiculares foram registradas frequências que variaram, em média, de 1,8 a 3,7 MCN (Santos *et al.* 2015). No centro urbano de Córdoba (Argentina), a média das frequências de MCN foi de 3,57, enquanto que em uma área residencial, a mesma foi de 1,68 MCN (Carreras *et al.* 2009).

A exposição de ramos de *T. pallida* com botões florais durante diferentes tempos no presente estudo não influenciou de forma diferenciada a formação de MCN, tanto no ambiente natural, bem como em ambiente interno. Tal resultado confirmou a hipótese de que o número de MCN não aumenta com uma exposição mais prolongada e corroborou com o indicativo de que os danos cromossômicos que levam à formação de MCN ocorrem no início da meiose (Ma 1982), que coincide com as primeiras horas de exposição das inflorescências na metodologia adotada. Os períodos de adaptação e recuperação dos ramos neste bioensaio asseguram que os danos celulares observados estejam relacionados com os efeitos de agentes genotóxicos presentes no ambiente atmosférico durante a exposição. Considerando que, sob as condições experimentais do presente estudo, ocorreram danos genéticos em *T. pallida* e que as frequências de MCN variaram significativamente ao longo do tempo,

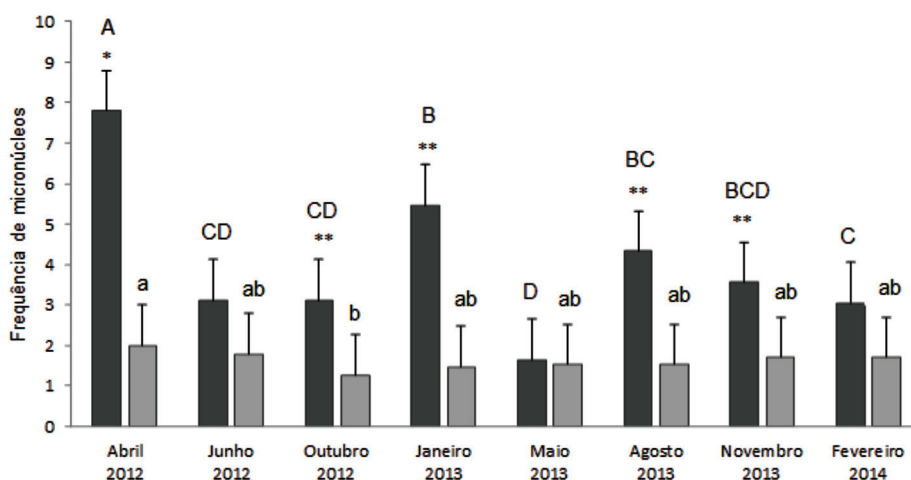


Figura 4. Frequência de micronúcleos (média $\pm$ desvio padrão) em *Tradescantia pallida* var. *purpurea* exposta por 8 horas ao ar atmosférico no município de São Leopoldo (colunas cinza escuro) e do controle negativo (colunas cinza claro). Médias seguidas de letras diferentes (maiúsculas, colunas cinza escuro; minúsculas, colunas cinza claro) diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P=0,05$). Asteriscos indicam diferenças significativas (* $P<0,05$) e altamente significativas (** $P<0,001$) entre as amostras e seus respectivos controles negativos, de acordo com o teste *t* de Student ($P=0,05$).

aponta-se para a importância do bioensaio Trad-MCN para compor diagnósticos ambientais.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Universidade Feevale pela infraestrutura disponibilizada; à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) pelas bolsas de doutorado de G. M. da Costa (CAPES/FAPERGS) e M. B. B. Cassanego (CAPES/PROSUP); ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) e à Universidade Feevale pelas bolsas de iniciação científica, respectivamente, de M. H. Sasamori; D. Endres Júnior e C. T. Petry.

REFERÊNCIAS

- BLUME, K. K., COSTA, G. M., CASSANEGO, M. B. B. & DROSTE, A. 2014. Genotoxicidade do ar em área urbana na região metropolitana de Porto Alegre, RS, Brasil. *Revista Brasileira de Biociências*, 12(3): 158-163.
- CARRERAS, H. A., RODRIGUEZ, J. H., GONZÁLEZ, C. M., WANNAZ, E. D., FERREYRA, F. G., PEREZ, C. A. & PIGNATA, M. L. 2009. Assessment of the relationship between total suspended particles and the response of two biological indicators transplanted to an urban area in central Argentina. *Atmospheric Environment*, 43: 2944-2949.
- CASSANEGO, M. B. B., COSTA, G. M., SASAMORI, M. H., ENDRES-JÚNIOR, D., PETRY, C. T. & DROSTE, A. 2014. The *Tradescantia pallida* var. *purpurea* active bioassay for water monitoring: evaluating and comparing methodological conditions. *Revista Ambiente & Água*, 9: 424-433.
- COSTA, G. M. & DROSTE, A. 2012. Genotoxicity on *Tradescantia pallida* var. *purpurea* plants exposed to urban and rural environments in the metropolitan area of Porto Alegre, southern Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 72: 801-806.
- FEE, 2014. Fundação de Economia e Estatística do Rio Grande do Sul. Disponível em: http://www.fee.tche.br/sitefee/pt/content/resumo/pg_municipios_detalhe.php. Acesso em: 14 fev. 2015.
- GUIMARÃES, E. T., DOMINGOS, M., ALVES, E. S., CALDINI JÚNIOR, 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*-micronucleus (Trad-MCN) assay. *Environmental and Experimental Botany*, 44: 1-8.
- GRISOLIA, C. K. 2002. A comparison between mouse and fish micronucleus test using cyclophosphamide, mitomycin C and various pesticides. *Mutation Research*, 518: 145-150.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. 2014. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em: 20 jan. 2015.
- KLUMPP, A., ANSEL, W., KLUMPP, G., BELLUZZO, N., CALATAYUD, V., CHAPLIN, N., GARRECS, J. P., GUTSCHE, G. H. J., MAYES, M., HENTZE, H. W., KAMBEZIDIS, H., LAURENT, J., PEFIUELAS, J., RASMUSSEN, S., RIBAS, A., RO-POULSEN, H., ROSSI, S., SANZ, M. J., SHANGS, H., SIFAKIS, N. & VERGNE, P. 2002. EuroBionet: A Pan-European Biomonitoring Network for Urban Air Quality Assessment. *Environmental Management Strategies*, 3: 199-203.
- 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., CALATAYUD, V., GARREC, J. P., HE, S., PENUELAS, J., RIBAS, A., RO-POULSEN, H., RASMUSSEN, S., SANZ, M. J. & VERGNE, P. 2006. Ozone pollution and ozone biomonitoring in European cities. Part I: ozone concentrations and cumulative exposure indices at urban and suburban sites. *Atmospheric Environment*, 40: 7963-7974.
- 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. 1982. *Tradescantia* cytogenetic tests (root-tip mitosis, pollen mitosis, pollen mother-cell meiosis). A report of the U. S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. *Mutation Research*, 99: 293-302.
- MA, T. H. 1983. *Tradescantia* micronucleus (Trad-MCN) test of environmental clastogens, In: KOLBER, A. R., WONG, T. K., GRANT, L. D., DEWONKI, R. S. & HUGHES, T. J. (Eds). *In vitro Toxicity Testing of Environmental Agents, Current and Future Possibilities*, New York: Plenum, p.191-214.
- MA, T. H., CABRERA G. L., CHEN, R., GILL, B. S., SANDHU, S. S., VANDENBERG, A. L. & SALAMONE, M. F. 1994. *Tradescantia* micronucleus bioassay. *Mutation Research*, 310: 221-230.
- MARKERT, B. 2007. Definitions and principles for bioindication and biomonitoring of trace metals in the environment. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 21: 77-82.
- MIGLIAVACCA, D. M., TEIXEIRA, E. C. & RODRIGUEZ, M. T. R. 2012. Composição química da precipitação úmida da região metropolitana de Porto Alegre, Brasil, 2005-2007. *Química Nova*, 35: 1075-1083.
- MONARCA, S., FERETTI, D., ZANARDINI, A., MORETTI, M., VILLARINI, M., SPIEGELHALDER, Z., GELATTI, U. & LEBBOLO, E. 2001. Monitoring airborne genotoxicants in the rubber industry using genotoxicity tests and chemical analyses. *Mutation Research*, 490: 159-169.
- PEREIRA, B. B., CAMPOS JÚNIOR, E. O. & MORELLI, S. 2013. *In situ* biomonitoring of the genotoxic effects of vehicular pollution in Uberlândia, Brazil, using a *Tradescantia* micronucleus assay. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 87: 17-22.
- PRAJAPATI, S. K. & TRIPATHI, B. D. 2008. Assessing the genotoxicity of urban air pollutants in Varanasi City using *Tradescantia* micronucleus (Trad-MCN) bioassay. *Environment International*, 34: 1092-1096.
- SANTOS, A. P. M., SEGURA-MUÑOZ, S., NADAL, M., SCHUHMACHER, M., DOMINGO, J. L., MARTINEZ, C. A. & TAKAYANAGUI, A. M. M. 2015. Traffic-related air pollution biomonitoring with *Tradescantia pallida* (Rose) Hunt. cv. *purpurea* Boom in Brazil. *Environmental Monitoring Assessment*, 39: 5-10.
- SASAMORI, M. H., ENDRES-JÚNIOR, D., BARBOSA, M. D., SCHMITT, J. L. & DROSTE, A. 2012. Active monitoring of urban air with a simple short-term *Tradescantia pallida* var. *purpurea* bioassay under different temperature conditions. *Revista Brasileira de Biociências*, 10(3): 298-302.
- SAVÓIA, E. G., DOMINGOS, M., GUIMARÃES, E. T., BRUMATI, F. & SALDIVA, P. H. 2009. Biomonitoring genotoxic risks under the urban weather conditions and polluted atmosphere in Santo André, SP, Brazil, through Trad-MCN bioassay. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72: 255-260.
- TEIXEIRA, E. C., FELTES, S. & SANTANA, E. R. R. 2008. Estudo das emissões de fontes móveis na Região Metropolitana de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. *Química Nova*, 31: 244-248.
- TEIXEIRA, E. C., MATTIUZI, C. D. P., FELTES, S., WIEGAND, F. & SANTANA, E. R. R. 2012. Estimated atmospheric emissions from biodiesel and characterization of pollutants in the metropolitan area of Porto Alegre-RS. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 84: 655-667.
- THEWES, M. R., ENDRES-JÚNIOR, D. & DROSTE, A. 2011. Genotoxicity biomonitoring of sewage in two municipal wastewater treatment plants using the *Tradescantia pallida* var. *purpurea* bioassay. *Genetics and Molecular Biology*, 34: 689-693.