



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
COLEGIADO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

JOSELLI SANTOS SILVA

**EFEITOS GENOTÓXICOS EM TÉTRADES DE *Tradescantia pallida* (Rose) D.R. Hunt var. *purpurea* INDUZIDOS POR POLUENTES ATMOSFÉRICOS NA CIDADE DO SALVADOR-BA**

Feira de Santana – BA  
2005



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
COLEGIADO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

JOSELLI SANTOS SILVA

**EFEITOS GENOTÓXICOS EM TÉTRADES DE *Tradescantia pallida* (Rose) D.R. Hunt var. *purpurea* INDUZIDOS POR POLUENTES ATMOSFÉRICOS NA CIDADE DO SALVADOR-BA**

---

Monografia apresentada ao Colegiado do Curso de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Feira de Santana, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Área de concentração: Genética

Orientador: Professora Dra. Eneida de Moraes Marcílio Cerqueira

Co-orientadora: Professora Dra. Josanídia Santana Lima

---

Feira de Santana – BA  
2005



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
COLEGIADO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

JOSELLI SANTOS SILVA

**EFEITOS GENOTÓXICOS EM TÉTRADES DE *Tradescantia pallida* (Rose) D.R. Hunt var. *purpurea* INDUZIDOS POR POLUENTES ATMOSFÉRICOS NA CIDADE DO SALVADOR-BA**

Feira de Santana, 1 de Outubro de 2005.

BANCA EXAMINADORA

Nome: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Eneida de Moraes Marcílio Cerqueira  
Instituição: Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS)  
Aprovado:

Nome: Prof. Dr. Francisco de Assis Ribeiro dos Santos  
Instituição: Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS)  
Aprovado:

Nome: Prof. MsC. José Roberto Cardoso Meireles  
Instituição: Universidade do Estado da Bahia (UNEB)  
Aprovado:

Dedico este trabalho, com amor e gratidão a minha mãe, Lili, que idealizou e é em grande parte responsável pela realização desse sonho, que é minha graduação.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por minha vida e por todas as dádivas que Ele me proporciona a cada manhã;

A minha família, pelo amor, além de auxílio e presença constantes em todos os estágios do trabalho;

À Profa. Dra. Eneida de Moraes Marcílio Cerqueira, orientadora e mestra, pelos conhecimentos por mim adquiridos, frutos de sua orientação, que muito contribuíram para o meu crescimento profissional e pessoal;

Ao José Roberto Cardoso Meireles, um dos responsáveis por este projeto, por sua orientação, apoio e prestatividade enquanto profissional e amigo;

Ao estatístico Roberto Leung pela imensa contribuição para a análise estatística;

À equipe do Laboratório de Alternativas Viáveis a Impactos em Ecossistemas Terrestres (LAVIET) do Instituto de Biologia da Universidade Federal da Bahia, e em particular à Profa. Dra. Josanídia Santana Lima pela oportunidade concedida, que em muito auxiliou em várias etapas;

À equipe do Centro de Recursos Ambientais (C.R.A.) pelas informações dadas a respeito do ponto experimental de Mont Serrat que contribuíram para a discussão;

Ao Prof. Antônio (LAPH - UEFS) por contribuir para a discussão de alguns resultados;

A Edval Seixas da Superintendência de Engenharia e Tráfego (SET), por conceder valiosas informações que constam nos resultados;

A Professora Ana Lúcia Pires Cotias de Oliveira (Laboratório de Citogenética Vegetal da UFBA) pela infra-estrutura concedida para realização de parte das análises;

À amiga Manuelita Hermes Rosa Oliveira Filha pelo auxílio no preparo do Abstract;

À Maíza Alves Lopes pelo apoio técnico inicial;

À Cláudia Ribeiro de Jesus e João Antônio Peres Godinho pelo apoio na obtenção das fotografias;

Ao colega Marcos P. de Araújo por sua prestatividade;

A Iordan Santos Silva por dar subsídios para realização de parte da digitação deste trabalho;

À amiga Cristiane Costa Junqueira pelo auxílio gráfico;

As amigas inseparáveis e companheiras constantes nessa jornada, Viviane Costa Junqueira, Lavínia Tércia Magalhães Dórea e Rentata Conduru Ribeiro pelo grande apoio, pelos momentos alegrias e ombros amigos sempre a postos;

A Profa Maria Aparecida Paim de Cerqueira por promover a impressão de alguns artigos científicos além de disponibilidade para prestar informações intrainstitucionais;

As amigas da república estudantil “Elite”, Amanha Rocha, Jéssica Prazeres, Joiciane Souza e Laila Sampaio, que foram muito acolhedoras em uma nova empreitada de minha vida;

A Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), a instituição que deu subsídios à minha formação profissional e me acolheu nesses cinco anos de graduação.

“... o Senhor dá a sabedoria e da Sua boca vem a inteligência e o entendimento. Ele reserva a verdadeira sabedoria para os retos; é escudo para os que caminham na sinceridade“

Provérbios 2:6-7

## SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

A)LISTA DE FIGURAS

B)LISTA DE TABELAS

RESUMO

ABSTRACT

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
3. OBJETIVO.....	22
4. METODOLOGIA.....	23
4.1 Pontos Amostrais.....	23
4.2 Coleta do material.....	24
4.3 Preparação Citológica.....	24
4.4 Análise Citogenética.....	25
4.5 Análise Estatística.....	26
5. RESULTADOS.....	27
5.1 Caracterização dos pontos amostrais.....	27
5.2 Período de Coleta.....	31
5.3 Análise Citogenética.....	31

6. DISCUSSÃO.....	37
6.1 Considerações Gerais.....	37
6.2 Aspectos Metodológicos importantes.....	39
6.3 Análise Citogenética.....	40
7. CONCLUSÕES.....	43
8. REFERÊNCIAS.....	44

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### A) LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> <i>Tradescantia pallida</i> (Rose) D.R. Hunt var. <i>purpurea</i> .....	23
<b>Figura 2</b> Material utilizado na preparação citológica.....	24
<b>Figura 3</b> Esquema da preparação citológica.....	25
<b>Figura 4</b> Tétrade sem alterações.....	25
<b>Figura 5</b> Tétrade com micronúcleo.....	25
<b>Figura 6</b> Canteiro Waldemar Falcão/Lucaia.....	27
<b>Figura 7</b> Ladeira da rua Waldemar Falcão.....	27
<b>Figura 8</b> Canteiro do Vale de Nazaré.....	28
<b>Figura 9</b> Vista do canteiro do Vale de Nazaré.....	28
<b>Figura 10</b> Canteiro da Avenida Juracy Magalhães.....	29
<b>Figura 11</b> Vista da Avenida Juracy Magalhães.....	29
<b>Figura 12</b> Vista de Mont Serrat: C.R.A, rua e praia.....	30
<b>Figura 13</b> Frequência média de micronúcleos em 100 células nos quatro pontos amostrais em cinco meses.....	32
<b>Figura 14</b> Mont Serrat - proporção de micronúcleos (transformada) em função do tempo, acompanhada pela linha de tendência e equação da reta.....	35
<b>Figura 15</b> Waldemar Falcão/Lucaia - proporção de micronúcleos (transformada) em função do tempo, acompanhada pela linha de tendência e equação da reta.....	35
<b>Figura 16</b> Juracy Magalhães - proporção de micronúcleos (transformada) em função do tempo, acompanhada pela linha de tendência e equação da reta.....	36
<b>Figura 17</b> Vale do Nazaré - proporção de micronúcleos (transformada) em função do tempo, acompanhada pela linha de tendência e equação da reta.....	36

## B) LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> Número de veículos contados no período de 1 hora.....	30
<b>Tabela 2</b> Número (N) e frequência (Freq.) de MNs observados em cada lâmina.....	31
<b>Tabela 3</b> Resultados da análise de variância em arranjo fatorial 4x5 (quatro localidades e cinco tempos).....	32
<b>Tabela 4</b> Frequência média de micronúcleos (MN/100 tétrades) por ponto amostral.....	33
<b>Tabela 5</b> Frequência média de micronúcleos (MN/100 tétrades) por mês de amostragem.....	33
<b>Tabela 6</b> Equação da reta de regressão entre a proporção de micronúcleos(Y, transformada) e o tempo (X), valor da estatística <i>t</i> para o coeficiente angular da reta, e a probabilidade de erro tipo I associada ao valor de <i>t</i> nos pontos amostrados.....	34

## RESUMO

A qualidade do ar atmosférico nos centros urbanos é comprometida por diversos fatores, destacando-se entre eles a emissão de gases pelas descargas de veículos automotores, comprometendo a qualidade de vida das pessoas que vivem nestas áreas. O biomonitoramento da poluição do ar constitui importante procedimento para adoção de medidas de controle visando à melhoria da qualidade do ambiente urbano. A cidade do Salvador/BA (Brasil), segundo estimativa do IBGE (2004), tem 2.631.831 habitantes e conta com uma grande frota de veículos automotores. Por ser uma cidade dotada de muitas atrações turísticas, em alguns meses o número de pessoas e de veículos que nela transitam aumenta significativamente, por isso o monitoramento da qualidade do ar dessa cidade é medida que se faz necessária visando o bem estar de seus moradores e também dos visitantes. O Teste de Micronúcleo em *Tradescantia* (Trad-MCN) é 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 qualidade do ar na cidade do Salvador/BA em locais de tráfego variado de veículos, utilizando o Trad-MCN. Para tal, quatro diferentes locais da cidade ornamentados com *Tradescantia pallida* (Rose) Hunt var. *purpurea* foram adotados como pontos amostrais: Avenida Juracy Magalhães, Mont Serrat, Vale de Nazaré e esquina das ruas Waldemar Falcão/Lucaia. Esses locais foram caracterizados observando-se a existência de semáforos e ladeiras; e a intensidade do tráfego de veículos nas suas proximidades. Inflorescências jovens foram coletadas e encaminhadas ao Laboratório de Genética Toxicológica da Universidade Estadual de Feira de Santana para processamento. O número de micronúcleos em 300 tétrades por lâmina foi contado sob microscopia óptica em magnificação de 400X, e os resultados foram expressos em porcentagem (frequência de micronúcleo). As frequências de micronúcleos foram comparadas fazendo uso da Análise de Variância, em um arranjo fatorial 4x5 com cinco repetições, e do Teste de Tukey. As plantas da Avenida Juracy Magalhães apresentaram frequência média de micronúcleos significativamente menor que os demais pontos ( $0,32 \pm 0,28$ ); as maiores frequências registradas foram observadas nas plantas da esquina das ruas Waldemar Falcão/Lucaia ( $1,16 \pm 1,22$ ) e Vale de Nazaré ( $0,91 \pm 1,09$ ). Plantas coletadas em Mont Serrat apresentaram frequências intermediárias entre estes dois extremos ( $0,81 \pm 0,88$ ). Os resultados mostram que substâncias liberadas na atmosfera de Salvador por veículos automotores induzem à ocorrência de danos genéticos.

Palavras-chave: Micronúcleo; Genotoxicidade; Trad-MCN; *Tradescantia*; Biomonitoramento.

## ABSTRACT

The quality of atmospheric air in the urban centers is compromised by several factors, being distinguished among them the emission of gases by the discharges of automachine vehicles, affecting the human health. Salvador/BA (Brazil), according to IBGE (2004), has 2,631,831 inhabitants and counts on a great fleet of automachine vehicles. As a city endowed with many tourist attractions, during the summer time the number of people and vehicles has a great increase. The monitoring of the air quality is a necessary measured aiming the welfare of inhabitants and visitors. The *Tradescantia* - micronucleus (Trad-MCN) assay is extensively used in environmental monitoring because it's effective in the detection of chromosomic damages in cytological preparations of easy execution. In the present study the air quality in places of varied traffic of vehicles was evaluated, using the Trad-MCN. To reach this goal, four different places, decorated with *Tradescantia pallida* (Rose) D.R. Hunt var. *purpurea*, were adopted as experimental points: Avenida Juracy Magalhães, Mont Serrat, Vale de Nazaré and the corner of Waldemar Falcão/Lucaia streets. These places were characterized by assessment the existence of traffic lights and slopes; and the amount of vehicles moving along the roads nearby the region examined. Young inflorescences were collected to be processed in the Laboratório de Genética Toxicológica da Universidade Estadual de Feira de Santana. The number of micronuclei in 300 tetrads per slide was counted at 400X magnification, and the results were expressed as percentage (frequency of micronuclei). The frequencies of micronuclei were compared using the Analysis of Variance, in a factorial arrangement 4x5 with five repetitions, and Tukey Test. The plants of the Avenida Juracy Magalhães presented a frequency of micronuclei striking shorter than the other places ( $0.32 \pm 0.28$ ); the highest frequencies registered were observed in the plants on the corner of Waldemar Falcão/Lucaia streets ( $1.16 \pm 1.22$ ) and Vale de Nazaré ( $0.91 \pm 1.09$ ). Plants collected in Mont Serrat presented intermediate frequencies among the places studied ( $0.81 \pm 0.88$ ). The results show that substances emits by the discharges of automachine vehicles in the Salvador's air induces genotoxic effect increasing the frequency of chromosomic damages.

Keywords: Micronuclei; Genotoxicity; Trad-MCN; *Tradescantia*; Biomonitoring

## 1. INTRODUÇÃO

A qualidade do ar atmosférico nos centros urbanos está freqüentemente comprometida por diversos fatores, implicando diretamente na qualidade de vida das pessoas que vivem nestas áreas. Estudos epidemiológicos apontam sistematicamente para o aumento na freqüência de tumores de pulmão em habitantes das áreas urbanas, sendo a poluição atmosférica a possível responsável por essa diferença (BATALHA et al., 1999).

Entre os fatores que contribuem significativamente para reduzir a boa qualidade do ar em centros urbanos, destaca-se a emissão de gases pelas descargas de veículos automotores que liberam para o ambiente, poluentes como o dióxido de enxofre (SO<sub>2</sub>), monóxido de carbono (CO), óxido de nitrogênio (NO<sub>2</sub>), diversos hidrocarbonetos (HC) e material particulado (MP). À custa destes poluentes, o ar em áreas de tráfego intenso acumula substâncias prejudiciais à saúde humana, algumas delas com potencial mutagênico e carcinogênico (MONARCA et al., 1999).

Extratos do ar de ambientes urbanos induzem genotoxicidade não apenas em humanos, mas também em animais, plantas e bactérias, podendo comprometer a harmonia dos ecossistemas (ISIDORI et al., 2003).

Desse modo, o monitoramento da poluição do ar constitui importante procedimento para que medidas de controle sejam adotadas visando à melhoria da qualidade de vida dos habitantes das áreas urbanas.

O monitoramento ambiental pode ser realizado por análises químicas de amostras do ar para detectar a concentração dos poluentes, ou através de bioindicadores da poluição. As análises químicas fornecem informações relevantes sobre a composição da atmosfera, identificando, seus componentes. Com o uso de bioindicadores, são identificados os efeitos genotóxicos de agentes mutagênicos presentes na atmosfera.

Entre os muitos bioindicadores empregados para avaliação do potencial mutagênico da atmosfera, destaca-se o Teste de Micronúcleo em vegetais. Esse teste foi primeiro utilizado por Evans et al. (1959) em experimentos *in vitro* com raiz de *Vicia faba*, sendo hoje aplicado em outros modelos vegetais como *Allium cepa* e *Tradescantia spp.* (Commelinaceae) e é amplamente utilizado em pesquisas visando o monitoramento ambiental (MAJER et al., 2001).

O Teste de Micronúcleo em *Tradescantia* (Trad-MCN) é considerado valiosa ferramenta por muitos pesquisadores pela simplicidade da metodologia e sensibilidade desta planta à exposição aos genotóxicos (MA et al., 1994; RODRIGUES et al., 1997; BATALHA et al., 1999; GUIMARÃES et al., 2000).

Micronúcleos (MN) são estruturas resultantes 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 (HEDDLE et al., 1983). Refletem, portanto, a ocorrência tanto de danos estruturais quanto de aneuploidia permitindo, conseqüentemente, detectar a ação de agentes clastogênicos e aneugênicos (EVANS, 1997).

O Trad-MCN oferece as vantagens de um procedimento simples e eficaz, e permite a avaliação do dano cromossômico em preparações citológicas de rápida execução. O baixo custo financeiro e o fácil acesso ao material de estudo (as plantas são facilmente cultivadas e habitualmente utilizadas para ornamentação) são fatores adicionais às outras vantagens dessa metodologia. Além disso, em divisão meiótica os cromossomos são mais sensíveis à quebra do que os cromossomos mitóticos, especialmente na prófase I, durante o paquíteno e o diplóteno, fato este, que aumenta a sensibilidade e, portanto, a eficiência do teste.

Padronizado inicialmente para ser aplicado em clones de *Tradescantia*, o Trad-MCN é fundamentado na contagem de micronúcleos formados no citoplasma de células-mãe dos grãos de pólen na fase de tétrades jovens (MA, 1983).

Espécimes de *Tradescantia pallida*, tal como ocorrem em a natureza, são tão eficientes como bioindicadores quanto às plantas obtidas por clonagem apesar de não serem geneticamente uniformes (GUIMARÃES et al., 2000). Desse modo, sua utilização é válida, particularmente nos locais que não oferecem condições climáticas favoráveis ao desenvolvimento de clones.

Diversos estudos foram realizados utilizando o Trad-MCN em centros urbanos de vários países objetivando avaliar o potencial mutagênico da poluição atmosférica (ARUTYUNYAN, et al., 1999; GICHNER & VELEMÍNSKÝ, 1999; ISIDORI et al., 2003).

Estudos realizados no Brasil, nas cidades de São Paulo (SP) e Salvador (BA), utilizando essa metodologia, revelaram que a mistura dos compostos presentes no ar destas cidades é efetiva em causar danos ao DNA (BATALHA et al., 1999; GUIMARÃES et al., 2000; PETRIC, 2001).

A cidade do Salvador abriga segundo estimativa do IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) de 2004, uma população de 2.631.831 habitantes. Localizada no litoral do Estado da Bahia, esta cidade possui um intenso fluxo de turistas e conta com uma grande frota de veículos automotores. Segundo dados do Departamento Estadual de Trânsito do Estado da Bahia (DETRAN-BA) a média de veículos automotores aumentou aproximadamente 21% entre dezembro de 1999 e outubro de 2003.

É possível que Salvador tenha uma atmosfera de boa qualidade, mas a escassez de informações a esse respeito suscita a realização de estudos que avaliem o potencial mutagênico do seu ar.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O desenvolvimento das habilidades humanas na manipulação do ambiente cresceu vertiginosamente desde o tempo em que os alquimistas procuravam o “elixir da longa vida” até o presente século. Nesse longo período, o homem descobriu (e criou!) elementos e compostos químicos que muito contribuíram para a melhoria da qualidade de vida. Já em 1995, Repetto referia que mais de mil novos produtos eram sintetizados por ano, incluindo-se entre eles reagentes químicos, medicamentos, cosméticos, praguicidas e aditivos alimentares. São virtualmente inesgotáveis os benefícios do progresso industrial à humanidade, dentre os quais se destaca a produção de medicamentos (o que refletiu no aumento da expectativa de vida), a fabricação dos agrotóxicos para controle de pragas nas lavouras (aumentando, com isso, a produção de alimentos), a construção de habitações mais seguras e confortáveis e a melhoria das condições de higiene.

É, portanto, inegável que o avanço técnico/industrial trouxe enormes benefícios à vida atual. Por outro lado, esse processo foi acompanhado por uma crescente exposição do homem aos agentes de natureza física ou química capazes de causarem riscos à saúde. Além disso, quando introduzidos no ambiente, esses agentes oferecem riscos não só ao homem, mas comprometem toda a harmonia dos ecossistemas.

A exposição humana aos denominados agentes mutagênicos, efetivos em causar danos ao material genético, constitui uma das grandes preocupações do mundo atual. Tais agentes estão intimamente relacionados com o desenvolvimento de câncer e potencialmente comprometem gerações futuras quando, em causando danos ao DNA das células germinativas, são passíveis de transmissão às gerações seguintes.

A descoberta da vulnerabilidade do material genético às agressões impostas pelo ambiente criou uma nova área de pesquisa\_ a Genética Toxicológica\_ na qual especialistas se dedicam ao estudo das lesões e alterações induzidas por substâncias químicas e/ou agentes físicos ao DNA (RABELLO-GAY et al., 1991).

Os estudos nesta área de pesquisa podem conduzir a informações precisas sobre a exposição e o risco à integridade celular e, assim, a uma efetiva prevenção dos problemas de saúde.

A maioria dos agentes mutagênicos tem, também, potencial carcinogênico, de modo que o desenvolvimento de neoplasias constitui uma das principais conseqüências da exposição à mutágenos. O câncer, considerado hoje uma doença genética é o problema de saúde mais preocupante associado à ação de agentes mutagênicos. A exposição a esses agentes, aliada ao aumento da expectativa média de vida proporcionada pelo avanço da medicina, contribuiu para que, a partir da segunda metade do século passado, o câncer tenha assumido importância relativa cada vez maior entre as causas de morte no Brasil. Em 1930, a doença representava menos de 3% dos óbitos ocorridos; em 1989, passou a representar 12%, constituindo-se, então, na segunda causa de morte por doença no país (BRASIL, 2002).

O câncer constitui a segunda causa de morte por doença no Brasil. Em 1930, representava menos de 3% dos óbitos ocorridos; em 1989, passou a representar 12%, estimando-se que para o ano de 2020 pelo menos 15 milhões de pessoas poderão ser considerados de alto risco para o desenvolvimento desta doença (BRASIL, 1996; OLIVEIRA e FARIA, 1997).

Estudos epidemiológicos têm sistematicamente apontado para os prejuízos à saúde humana decorrentes da contaminação do ar atmosférico, como infecções respiratórias, disfunções cardiovasculares, alergias e câncer de pulmão (BATALHA et al., 1999; BRAUER et al., 2002; BRUNEKREEF et al., 2002; PEREIRA et al., 2002).

Batalha et al. (1999) chamam a atenção para a crescente taxa de tumores de pulmão em indivíduos que vivem em centros urbanos quando comparados àqueles habitantes das áreas rurais, sendo a poluição atmosférica a possível razão desse fato.

Leach & Jackson-Cook (2001) apontam a exposição ambiental como efetiva na indução de danos ao DNA relacionados com o envelhecimento e desenvolvimento de câncer. Os efeitos da exposição ao diesel e seus derivados foram avaliados por Torres-Bugarín et al. (1998) e os resultados deste estudo apontam para uma maior ocorrência de alterações nucleares indicativas de genotoxicidade em frentistas quando comparados a grupo controle não exposto.

Desse modo, o desenvolvimento de testes capazes de avaliar o potencial mutagênico de substâncias presentes no meio ambiente se faz cada vez mais

necessário, uma vez que o câncer é hoje sabidamente uma doença genética (WEINBERG, 2000).

O monitoramento ambiental nas grandes cidades, e particularmente naquelas industrializadas, é imperativo nos dias atuais em função dos inúmeros poluentes que são lançados diária e continuamente na atmosfera, rios, mares e solo.

Bioensaios utilizando modelos vegetais para detecção de agentes mutagênicos são, atualmente, reconhecidos como excelentes indicadores de danos cromossômicos induzidos por substâncias químicas presentes no ambiente e entre eles destaca-se a análise de micronúcleos em *Tradescantia* pela sensibilidade que este vegetal apresenta à ação genotóxica de substâncias presentes no ambiente aéreo e/ou aquático (GRANT, 1994). A utilização de modelos biológicos na avaliação do potencial mutagênico de poluentes atmosféricos serve também para informar sobre efeitos aditivos e sinérgicos de poluentes do ar, ao contrário das análises químicas que avaliam a ação isolada de um dado genotóxico (WADA et al., 2001; COHEN et al., 2002).

Arutyunyan, et al. (1999), investigaram os efeitos mutagênicos de poluentes atmosféricos no entorno de uma indústria de pneus na cidade de Yerevan (Armênia) utilizando a análise de mutações em pêlos estaminais de *Tradescantia*. Neste trabalho, após exposição das mudas durante dois meses em dois anos consecutivos (1991 e 1992), detectaram níveis altamente significantes de mutações nas plantas próximas à indústria quando comparadas com as mudas crescidas em jardins residenciais.

Gichner & Velemínský (1999) realizaram monitoramento da genotoxicidade de extratos de solos poluídos por dois metais pesados utilizando Trad-MCN e mutações em pêlos estaminais de *Tradescantia*. As amostras de solo foram coletadas em três locais na cidade de Praga (capital da República Tcheca) que, segundo os autores, tem o solo altamente poluído pelos motores de veículos. Não foi encontrada diferença estatística entre a frequência de mutações em pêlos estaminais entre plantas expostas e controles ( $p= 0,05$ ), entretanto a frequência de MN foi significativamente mais alta no parque de Letná, local em que existe alto fluxo de veículos automotores. Os autores concluem que o Trad-MCN é mais sensível para detecção de agentes genotóxicos do que o teste utilizando pêlos estaminais.

Experimentos foram conduzidos por Minouflet et al. (2005) objetivando avaliar a eficiência de três bioensaios vegetais na detecção de danos ao DNA em baixas

doses do radioisótopo  $^{137}\text{Cs}$ . Esses autores avaliaram o Teste de Micronúcleo em *Vicia faba* (Vicia-MCN) e em *Tradescantia* (Trad-MCN), e o Teste de Mutação em pêlos estaminais de *Tradescantia* (Trad-SH) e concluíram que, embora os três testes tenham sido efetivos em detectar os danos genéticos, o Trad-MCN mostrou-se o mais sensível.

Monarca et al. (1999) expuseram plantas de *Tradescantia* a material particulado coletado de duas ruas da cidade de Brescia (Itália): rua "A" com tráfego intenso de veículos e rua "B" localizada em uma área residencial. Adicionalmente foi realizado o monitoramento ativo, no qual plantas de *Tradescantia* foram deixadas por 24 horas em três áreas de Brescia com tráfego variado de veículos e em dois túneis com diferentes alturas e fluxo de veículos, um em Brescia (tráfego moderado) e o outro em Perugia (tráfego intenso). Os extratos particulados aéreos coletados na rua "A" induziram maior frequência de micronúcleos do que os coletados na rua "B". Não foi observada diferença significativa entre as plantas das três áreas de Brescia avaliadas. No túnel de Perugia, as inflorescências de *Tradescantia* apresentaram frequências médias de micronúcleos significativamente maiores do que aquelas observadas nas plantas do túnel de Brescia.

O Trad-MCN foi utilizado por Isidori et al. (2003) como ferramenta para monitorar a atmosfera urbana em Caserta (sul da Itália) em pontos de intenso fluxo de veículos automotores. Monitoramento *in situ* foi realizado em 17 locais e em duas estações do ano (verão e inverno). A frequência de micronúcleos detectada pelos autores foi significativamente mais alta nas plantas dos pontos amostrais selecionados quando comparada às das plantas controles ( $p=0,01$ ). Em relação à estação do ano, a frequência de micronúcleos nas plantas amostradas no inverno foi maior do que a observada nas amostras coletadas no verão.

Diversos estudos, utilizando o Trad-MCN foram realizados no estado de São Paulo (Brasil) objetivando o monitoramento ambiental, particularmente do ar (RODRIGUES et al., 1998; BATALHA et al., 1999; GUIMARÃES et al., 2000; CARVALHO-OLIVEIRA et al., 2005).

Rodrigues et al. (1998) compararam a frequência de micronúcleos em clones de *Tradescantia* cultivados na zona rural e urbana da capital de São Paulo. Os resultados obtidos indicaram que a frequência dessas estruturas foi significativamente maior nas amostras provenientes da zona urbana.

Batalha et al. (1999) utilizaram o Trad-MCN para avaliar, também na capital de São Paulo, os efeitos clastogênicos da poluição atmosférica. Amostras de ar do centro da cidade foram obtidas utilizando filtro “high-volume” e diluídas em água destilada nas concentrações de 15 e 30mg/l para tratamento das mudas de *Tradescantia pallida*. Os resultados obtidos mostraram que nas plantas tratadas com o extrato na concentração de 30 mg/l a frequência de MN foi significativamente maior do que a observada naquelas que receberam tratamento com o extrato menos concentrado ( $p= 0,008$ ). Segundo os autores, estes resultados dão suporte ao conceito de que habitantes de áreas urbanas estão cronicamente expostos a genotóxicos ambientais.

Guimarães et al. (2000), utilizando o Trad-MCN, realizaram, no estado de São Paulo, monitoramento incluindo duas áreas rurais (Pirassununga e Caucaia do Alto, distantes, respectivamente 200 km e 50 km da cidade de São Paulo) e duas áreas da capital (Avenida Bandeirantes, que dá acesso ao aeroporto de Congonhas, e avenida Dr. Arnaldo, localizada próximo ao bairro de Cerqueira César). Nas áreas da capital foram feitos monitoramento do tipo ativo e passivo, em Pirassununga e Caucaia do Alto foram realizados, respectivamente, monitoramentos passivo e ativo. O número de micronúcleos detectado nas plantas da Avenida Bandeirantes foi significativamente maior do que o observado nas áreas rurais. O número de micronúcleos nas plantas da Avenida Dr. Arnaldo foi também significativamente maior do que o observado na cidade de Caucaia do Alto, mas foi similar ao registrado nas plantas da cidade de Pirassununga. Na interpretação deste resultado, os autores destacam possível interferência da metodologia utilizada nas áreas rurais.

Carvalho-Oliveira et al. (2005) avaliaram na cidade de São Paulo (SP) a ocorrência de micronúcleos em *Tradescantia pallida* durante uma greve de ônibus ocorrida nos dias seis, sete e oito de abril de 2003 e no período subsequente a ela (15 de abril), utilizando para a coleta de amostras do ar um filtro “high-volume”. Os resultados obtidos mostraram que a frequência de micronúcleos foi significativamente menor no período de greve ( $p= 0,038$ ). Estes resultados indicam que um programa visando à redução da emissão da frota de ônibus em São Paulo pode refletir positivamente na qualidade do ar.

Relativo à cidade do Salvador (Bahia, Brasil), estudo desenvolvido por Barbosa (2001) abrangendo a área urbana e empregando plantas de tabaco no

biomonitoramento, apontou a presença do poluente ozônio em baixas concentrações, sugerindo a boa qualidade do ar. No entanto, Petric (2001) avaliando a ocorrência de danos cromossômicos em amostras de *Tradescantia pallida* cv. *purpurea*, obtidas de diferentes canteiros de Salvador, identificou uma maior proporção destes danos nas plantas retiradas das áreas de tráfego mais intenso.

### 3. OBJETIVO

O presente estudo objetivou investigar, através do uso do Teste de Micronúcleo em *Tradescantia* (Trad-MCN), o potencial mutagênico do ar da cidade do Salvador-BA em locais de tráfego variado de veículos, subsidiando a adoção de medidas preventivas de Saúde Pública.

## 4. METODOLOGIA

### 4.1 Pontos amostrais

Foram adotados como pontos amostrais, quatro canteiros ornamentados com *Tradescantia pallida* (Rose) D.R. Hunt var. *purpurea* (Figura 1), localizados em diferentes pontos da cidade do Salvador-BA que apresentam tráfego de veículos automotores diferenciado. Os canteiros localizam-se no Vale de Nazaré, Mont Serrat, Avenida Juracy Magalhães e esquina das ruas Waldemar Falcão/Lucaia. As posições exatas destes canteiros foram obtidas utilizando-se o Sistema de Posicionamento Global (G.P.S.).

A caracterização dos quatro pontos amostrais foi feita observando-se a existência de semáforos, ladeiras e intensidade do tráfego em suas proximidades. Superintendência de Engenharia de Tráfego da Bahia (SET-BA) forneceu dados a respeito do número de veículos que passam nas ruas Waldemar Falcão e Lucaia, na Avenida Juracy Magalhães e no Vale de Nazaré em diferentes períodos, mas não informou sobre o fluxo de veículos em Mont Serrat.



Figura 1. *Tradescantia pallida* (Rose) D.R. Hunt var. *purpurea*  
Fonte: <http://marche.exblog.jp>

## 4.2 Coleta do material

Foram coletadas inflorescências jovens de *Tradescantia pallida* (Rose) D.R. Hunt var. *purpurea* nos quatro pontos amostrais selecionados. Essas inflorescências foram fixadas em etanol/ácido acético (3:1), conduzidas ao Laboratório de Genética Toxicológica da Universidade Estadual de Feira de Santana e após 24 horas transferidas para solução de etanol a 70%. As coletas ocorreram no período de outubro de 2004 a fevereiro de 2005, totalizando cinco meses.

## 4.3 Preparações citológicas

O material coletado foi processado de acordo com a metodologia sugerida por MA et al. (1994). Foram selecionados botões florais jovens que continham células mães de grãos de pólen em estágio de tétrades. Os botões retirados das inflorescências jovens foram medidos com régua e posteriormente dissecados com estilete, utilizando estereomicroscópio para melhor visualização. As anteras assim obtidas foram maceradas com bastão de vidro sobre lâmina para microscopia após gotejamento com carmim acético. Após a maceração, os fragmentos das anteras foram descartados; a lâmina coberta com lamínula e rapidamente aquecida para uma melhor fixação do corante. Os materiais utilizados na preparação citológica são mostrados na Figura 2. A Figura 3 mostra de modo esquemático os passos da metodologia descrita.



Figura 2. Material utilizado na preparação citológica

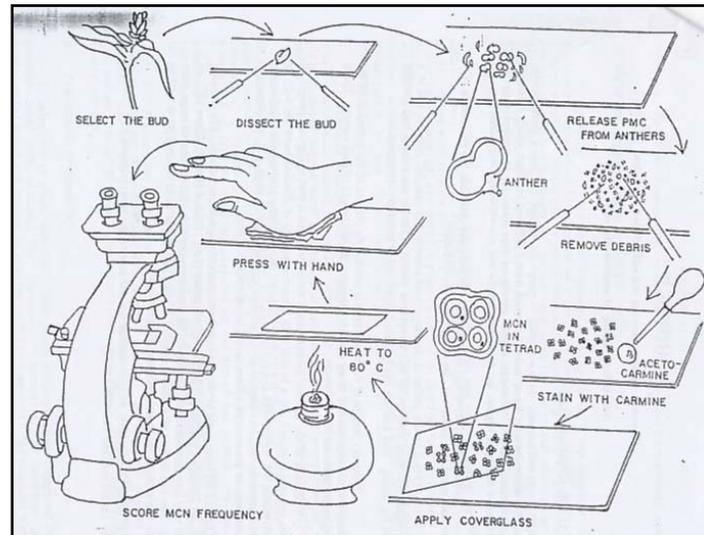


Figura 3. Esquema da preparação citológica  
Fonte: Ma (1981).

#### 4.4 Análise citogenética

A contagem dos micronúcleos foi realizada sob microscopia óptica sob magnificação de 400X. Um total de 300 tétrades por lâmina foi analisado e foram confeccionadas cinco lâminas por ponto amostral em cada mês. As frequências de micronúcleos foram registradas em cada lâmina (número de micronúcleos em 300 tétrades) e expressas em termos de MN/100 tétrades. Na microfotografia da Figura 4 observa-se uma tétrade sem alterações e na microfotografia da Figura 5 é observada uma tétrade com micronúcleo.



Figura 4. Tétrade sem alterações

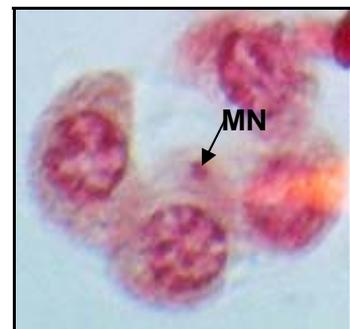


Figura 5. Tétrade com micronúcleo

#### 4.5 Análise estatística

As frequências de micronúcleos nos quatro pontos amostrais (Mont Serrat, esquina das ruas Waldemar Falcão/Lucaia, Avenida Juracy Magalhães e Vale de Nazaré) durante os cinco meses de estudo (outubro de 2004 a fevereiro de 2005) foram comparadas através da análise de variância, em um arranjo fatorial 4x5 com cinco repetições, e do teste de Tukey. Como as pressuposições de normalidade dos resíduos e homocedasticidade não foram preenchidas, foi empregada a transformação de dado  $\arcsin\sqrt{p}$ , onde  $p$  é proporção de micronúcleos (SOKAL E ROHLF 1995).

Foi empregada também análise de regressão linear entre as proporções de micronúcleos e os meses de coleta para cada um dos pontos amostrais. Outubro foi considerado o mês 1 e fevereiro o mês 5. A significância da análise de regressão foi testada através de teste  $t$  do coeficiente angular da reta de regressão. As pressuposições do modelo estatístico de normalidade e homocedasticidade dos resíduos também foram verificadas para assegurar a validade das conclusões. Os dados de proporção foram transformados antes da análise utilizando-se uma função  $\arcsin\sqrt{p}$ , onde  $p$ , como já comentado, é a proporção de micronúcleos (SOKAL E ROHLF 1995, ZAR 1999).

## 5. RESULTADOS

### 5.1 Caracterização dos pontos amostrais

O canteiro ornamentado com *Tradescantia pallida* (Rose) D. R. Hunt var. *purpurea* da esquina Waldemar Falcão/Lucaia ( $13^{\circ} 00.447'$  Sul e  $38^{\circ} 29.449'$  Oeste), localiza-se na subida da ladeira onde a rua Waldemar Falcão se inicia, fazendo esquina com a Lucaia (Figuras 6 e 7), rua, esta, com fluxo médio de veículos. A poucos metros do canteiro, existe um semáforo e um ponto de parada de ônibus.



Figura 6. Canteiro Waldemar Falcão/Lucaia



Figura 7. Ladeira da rua Waldemar Falcão

O canteiro localizado no Vale de Nazaré ( $12^{\circ} 58.345'$  Sul e  $38^{\circ} 28.930'$  Oeste) está em uma posição central, entre duas vias planas de sentidos opostos (Figuras 8 e 9), uma em sentido ao Vale do Bonocô e outra em sentido à Avenida Aquidabã. Nas duas extremidades do canteiro encontram-se semáforos. O fluxo de veículos é alto e contínuo.



Figura 8. Canteiro do Vale de Nazaré



Figura 9. Vista do canteiro do Vale de Nazaré

Na Avenida Juracy Magalhães (13° 00.047' Sul e 38° 28.912' Oeste), o canteiro, regado durante a maior parte do dia por um regador automático, está localizado no jardim da frente do prédio da Secretaria da Fazenda (Figuras 10 e 11), que fica situado no lado da avenida que tem tráfego em sentido ao Parque da Cidade. A avenida é plana, com fluxo contínuo e razoavelmente intenso de veículos. Não existem semáforos nas proximidades deste canteiro.



Figura 10. Canteiro da Avenida Juracy Magalhães



Figura 11. Vista do canteiro da Avenida Juracy Magalhães

Dados referentes ao número de veículos que transitam por esses pontos, obtidos na Superintendência de Engenharia de Tráfego de Salvador são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Número de veículos contados no período de 1 hora.

<b>Pontos Amostrais</b>	<b>Número de veículos em 1 hora</b>
Canteiro do Vale de Nazaré	$3.767^a + 2.999^b = 6.766$ (ano 1998)
Canteiro da Avenida Juracy Magalhães	<b>5.054</b> (ano 2002)
Canteiro da esquina Waldemar Falcão/Lucaia	$190^c + 3.527^d = 3.717$ (ano 2002)

<sup>a</sup> Tráfego em direção ao Vale do Bonocô; <sup>b</sup> Tráfego em direção a Av. Aquidabã; <sup>c</sup> Sobem a rua Waldemar Falcão; <sup>d</sup> Transitam pela rua Lucaia.

Fonte: Superintendência de Engenharia de Tráfego - BA

O ponto amostral de Mont Serrat ( $12^{\circ} 55.794'$  Sul e  $38^{\circ} 30.976'$  Oeste) localizado na região conhecida como Cidade Baixa, fica próximo ao Forte de Mont Serrat e faz parte do interior do Centro de Recursos Ambientais (CRA). Entre este canteiro e o mar há uma rua por onde transitam veículos em baixo fluxo durante a maior parte do ano (Figura 12). Esse fluxo, contudo, aumenta significativamente no verão e na temporada de férias do mês de julho, às custas especialmente de carros de passeio e ônibus de turismo que conduzem visitantes da cidade do Salvador para importantes pontos turísticos como o Forte de Mont Serrat e à Ponta de Humaitá. Além disso, este ponto está próximo ao Porto de Salvador (situado na Baía de Todos os Santos, entre a Ponta de Monte Serrat e a Ponta de Santo Antônio), e fica em frente ao trajeto mais utilizado pelas embarcações com destino ao porto em questão.



Figura 12. Vista de Mont Serrat: C.R.A., rua e praia

## 5.2 Períodos de coleta

As coletas ocorreram nos meses de outubro, novembro e dezembro de 2004; e janeiro e fevereiro de 2005, abrangendo assim duas estações consecutivas do ano: primavera e verão.

## 5.3 Análise Citogenética

Na tabela 2 são apresentados os resultados da análise citogenética referentes ao número e frequência de micronúcleos observados em cada lâmina (300 tétrades). As frequências médias de micronúcleos nos pontos amostrais, ao longo do tempo, são apresentadas na Figura 13.

Tabela 2. Número (N) e frequência (Freq.) de MNs observados em cada lâmina.

Pontos amostrais	Outubro 2004		Novembro 2004		Dezembro 2004		Janeiro 2004		Fevereiro 2005		
	Lam	N	Freq.	N	Freq.	N	Freq.	N	Freq.	N	Freq.
Mont Serrat	1º	5	1,667	10	3,333	1	0,333	34	11,333	14	4,667
	2º	1	0,333	5	1,667	2	0,667	22	7,333	9	3,00
	3º	0	0,000	7	2,333	5	1,667	11	3,667	0	0,000
	4º	4	1,333	8	2,667	5	1,667	17	5,667	12	4,000
	5º	1	0,333	2	0,667	0	0,000	1	0,333	7	2,333
Waldemar Falcão/Lucaia	1º	2	0,667	3	1,000	38	12,667	13	4,333	6	2,000
	2º	14	4,667	2	0,667	14	4,667	5	1,667	35	11,667
	3º	2	0,667	26	8,667	7	2,333	0	0,000	9	3,000
	4º	3	1,000	5	1,667	3	1,000	20	6,667	29	9,667
	5º	0	0,000	9	3,000	4	1,333	2	0,667	11	3,667
Juracy Magalhães	1º	3	1,000	1	0,333	3	1,000	0	0,000	3	1,000
	2º	5	1,667	4	1,333	1	0,333	2	0,667	7	2,333
	3º	0	0,000	3	1,000	3	1,000	0	0,000	3	1,000
	4º	4	1,333	3	1,000	1	0,333	1	0,333	9	3,000
	5º	0	0,000	4	1,333	6	2,000	0	0,000	8	2,667
Vale de Nazaré	1º	14	4,667	6	2,000	15	5,000	3	1,000	0	0,000
	2º	7	2,333	4	1,333	2	0,667	2	0,667	9	3,000
	3º	8	2,667	21	7,000	2	0,667	9	3,000	4	1,333
	4º	1	0,333	0	0,000	0	0,000	2	0,667	19	6,333
	5º	2	0,667	2	0,667	12	4,000	45	15,000	15	5,000

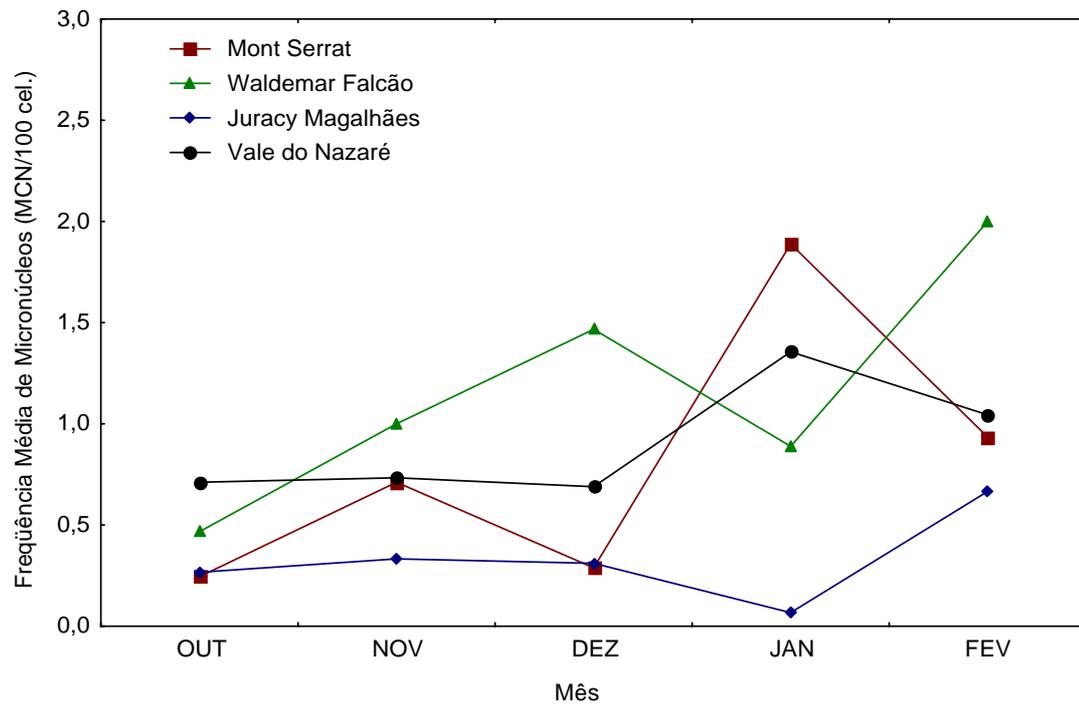


Figura 13. Frequência média de micronúcleos em 100 tétrades nos quatro pontos amostrais em cinco meses

A transformação  $\arcsin\sqrt{p}$  foi eficaz para normalizar os resíduos e homogeneizar as variâncias, atingindo desta forma duas pressuposições do modelo estatístico. Os resultados da análise de variância encontram-se na Tabela 3.

Tabela 3. Resultados da análise de variância em arranjo fatorial 4x5 (quatro localidades e cinco tempos).

Causa de Variação	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F	P
Local	0,026080	3	0,008693	4,1	0,009
Tempo	0,019982	4	0,004996	2,4	0,060
LocalxTempo	0,035793	12	0,002983	1,4	0,178
Resíduo	0,169070	80	0,002113		

Da análise desta tabela (Tabela 3) verifica-se que houve diferença significativa entre os pontos amostrais ( $F_{(3;80)} = 4,1$ ;  $p < 0,01$ ), mas não houve diferença entre os meses estudados ( $F_{(4;80)} = 2,4$ ;  $p > 0,05$ ). A interação entre o local e o tempo não foi significativa ( $F_{(12;80)} = 1,4$ ;  $p > 0,05$ ), indicando que o padrão

encontrado para os pontos amostrais se manteve constante ao longo dos meses, portanto foi possível calcular a média para cada ponto considerando-se todos os meses agrupados (Tabela 4) ou a média para cada mês considerando-se os pontos agrupados (Tabela 5).

Tabela 4. Freqüência média de micronúcleos (MCN/100 tétrades) por ponto amostral \*.

Ponto amostral	MCN/100 tétrades
Waldemar Falcão/Lucaia	1,16±1,22 <b>a</b>
Vale do Nazaré	0,91±1,09 <b>a</b>
Mont Serrat	0,81±0,88 <b>ab</b>
Juracy Magalhães	0,32±0,28 <b>b</b>

\* Médias seguidas por pelo menos uma letra igual não diferiram significativamente entre si ( $p > 0,05$ ) pelo teste de Tukey

Tabela 5. Freqüência média de micronúcleos (MCN/100 tétrades) por mês de amostragem.

Mês	MCN/100 tétrades
OUT	0,42±0,46
NOV	0,69±0,72
DEZ	0,69±0,97
JAN	1,05±1,39
FEV	1,16±0,98

A avaliação estatística das diferenças nas freqüências médias de micronúcleos (MN/100 células), observadas nas plantas dos diferentes pontos amostrais, feita com o uso do Teste de Tukey, mostra que o ponto Juracy Magalhães apresentou uma média de freqüência de micronúcleos significativamente menor que os demais pontos ( $p < 0,01$ ); esquina Waldemar Falcão/Lucaia e Vale do Nazaré apresentaram as maiores freqüências; e Mont Serrat apresentou freqüência intermediária (Tabela 4).

Apesar da análise de variância relativa à ocorrência de micronúcleos ao longo do tempo não ter revelado significância estatística observa-se uma tendência de aumento dos valores de micronúcleos, que apresentou uma significância marginal ( $F_{(4;80)} = 2,4$ ;  $p = 0,06$ ), ou seja, esteve muito próximo de ser estatisticamente significativa (Tabelas 3 e 5).

Analisando a Figura 13, verifica-se que a tendência de aumento da proporção de micronúcleos ao longo dos meses é mais expressiva para os dados obtidos nos pontos do Mont Serrat e Waldemar Falcão/Lucaia. Como o poder estatístico da análise de variância pode não ter sido suficiente para detectar este aumento (ou

porque ele foi suave e/ou a variância foi grande), a significância marginal observada foi explorada através de uma análise de regressão linear das proporções de micronúcleos e os meses de coleta em cada ponto. Outubro foi considerado o mês 1 e fevereiro o mês 5. A significância da análise de regressão foi testada através do teste  $t$  do coeficiente angular da reta de regressão. As pressuposições do modelo estatístico de normalidade e homocedasticidade dos resíduos também foram verificadas para assegurar a validade das conclusões. Os dados de proporção foram transformados antes da análise utilizando-se uma função  $\arcsin\sqrt{p}$ , onde  $p$  é proporção de micronúcleos (SOKAL E ROHLF 1995, ZAR 1999). As proporções transformadas de micronúcleos nos pontos de experimentais ao longo do tempo foram plotadas juntamente com as respectivas linhas de tendência nas Figuras 14, 15, 16, 17. A significância da análise de regressão é apresentada na Tabela 6.

Tabela 6. Equação da reta de regressão entre a proporção de micronúcleos ( $Y$ , transformada) e o tempo ( $X$ ), valor da estatística  $t$  para o coeficiente angular da reta, e a probabilidade de erro tipo I associada ao valor de  $t$  nos pontos amostrais.

Ponto amostral	Equação da Reta	$T_{(23)}$	$P$
Mont Serrat	$Y=0,036+0,013*X$	2,03	0,053
Waldemar Falcão/Lucaia	$Y=0,049+0,015*X$	1,95	0,063
Juracy Magalhães	$Y=0,037+0,004*X$	0,91	0,373
Vale do Nazaré	$Y=0,066+0,005*X$	0,62	0,543

As retas de regressão de Juracy Magalhães e Vale do Nazaré não foram significativas ( $p > 0,05$ ; Tabela 6), isto significa que, em média, as proporções de micronúcleos não apresentaram tendência de aumento ou diminuição ao longo do tempo (Figuras 16 e 17). No entanto, as retas ajustadas de Mont Serrat e Waldemar Falcão apresentaram significância marginal ( $p = 0,053$  e  $p = 0,063$ ; Tabela 6), ou seja, houve, uma tendência suave de aumento das proporções de micronúcleos ao longo dos meses (Figuras 14 e 15). Estes resultados são coerentes com aqueles obtidos com a análise de variância, onde o efeito tempo também apresentou uma significância marginal.

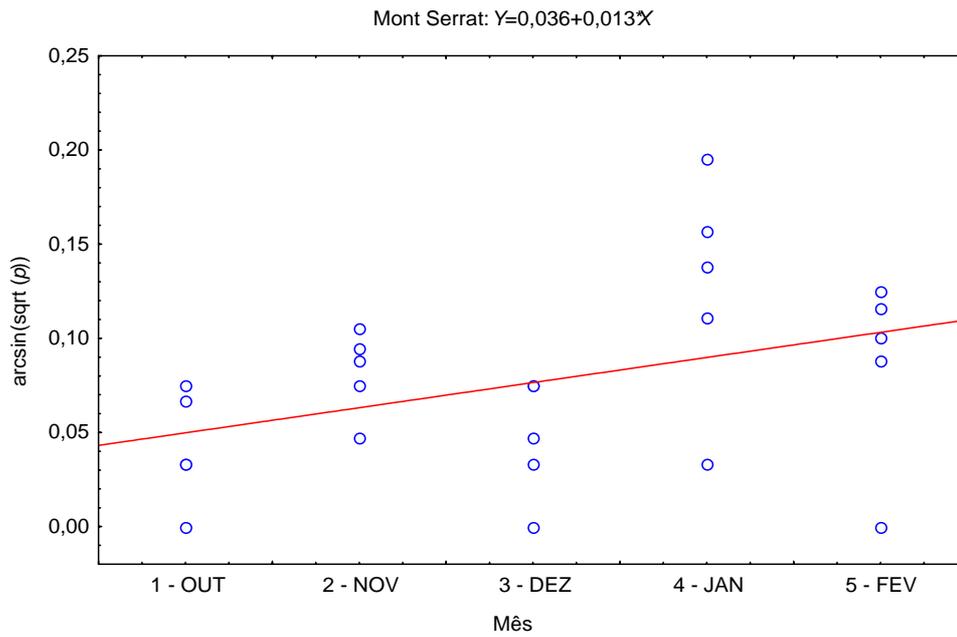


Figura 14. Mont Serrat - proporção de micronúcleos (transformada) em função do tempo, acompanhada pela linha de tendência e equação da reta

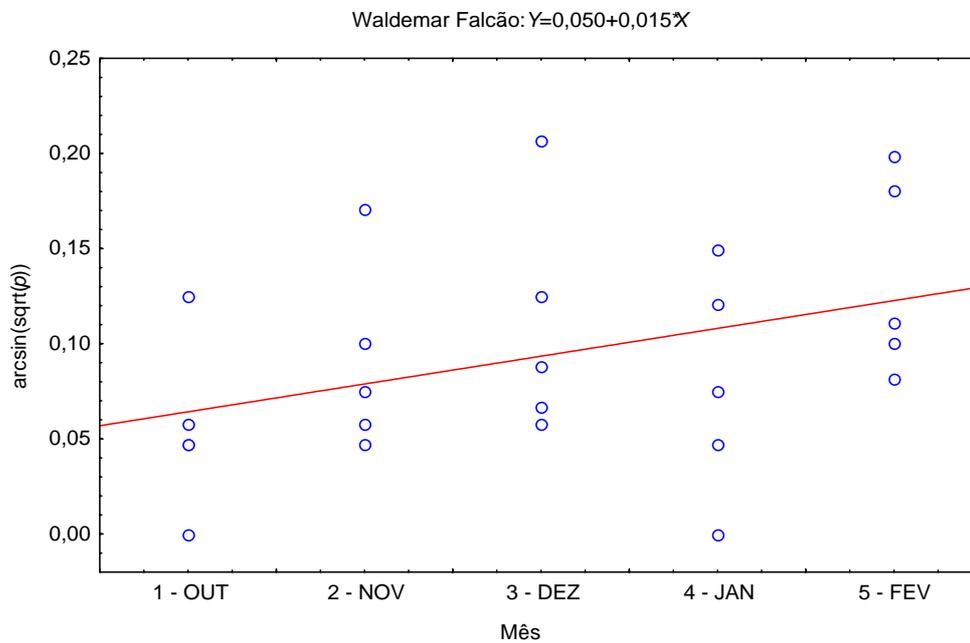


Figura 15. Waldemar Falcão/Lucaia - proporção de micronúcleos (transformada) em função do tempo, acompanhada pela linha de tendência e equação da reta.

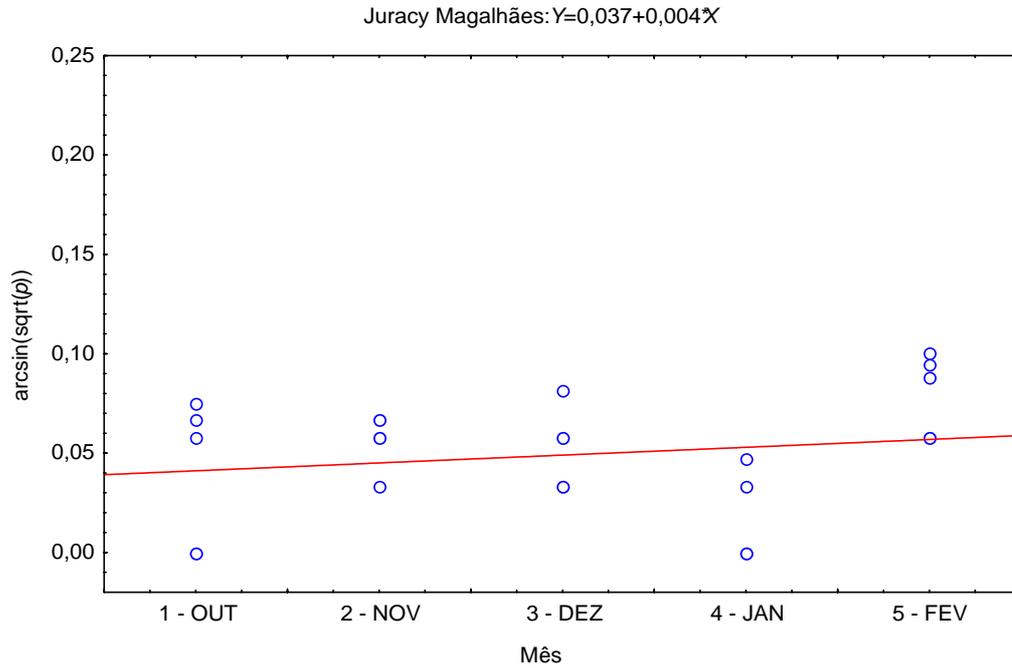


Figura 16. Juracy Magalhães - proporção de micronúcleos (transformada) em função do tempo, acompanhada pela linha de tendência e equação da reta.

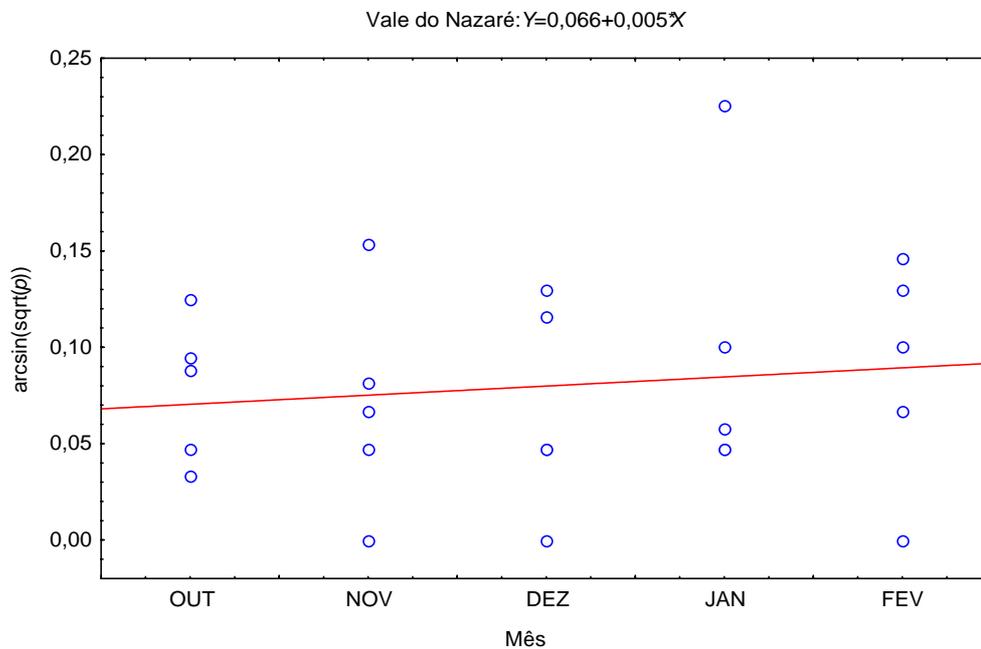


Figura 17. Vale do Nazaré - proporção de micronúcleos (transformada) em função do tempo, acompanhada pela linha de tendência e equação da reta

## 6. DISCUSSÃO

### 6.1 Considerações gerais

Um dos grandes problemas das populações que habitam metrópoles é o convívio com poluentes do ar, responsáveis por um número significativo de doenças, particularmente do aparelho respiratório.

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), México, Pequim, Cairo, Jacarta, Los Angeles, São Paulo e Moscou são as cidades, em ordem decrescente, classificadas como as mais poluídas do mundo, ultrapassando em muito os padrões de emissão de poluentes.

Salvador é uma cidade tipicamente tropical, com temperatura média de 25°C que pouco varia durante o ano. Localizada entre o Trópico de Capricórnio e a Linha do Equador, a cidade é uma das mais ensolaradas do mundo, apresentando dias claros em quase todas as estações do ano.

Esses fatores, adicionados à riqueza histórica da cidade, favorecem o turismo que é especialmente intenso no período do verão, particularmente nos meses de janeiro e fevereiro, coincidentes com períodos de férias e com a grande festa popular que é o carnaval.

Apesar dos muitos predicados naturais que fazem de Salvador uma cidade bastante aprazível, alguns fatores podem estar comprometendo a qualidade do ar, e o número substancial de veículos que circulam em suas vias é, certamente, o mais importante uma vez que a cidade não possui grandes complexos industriais em sua área urbana.

Entre os gases liberados para a atmosfera por veículos automotores inclui-se o dióxido de enxofre (SO<sub>2</sub>), o monóxido de carbono (CO), o óxido de nitrogênio (NO<sub>2</sub>) e hidrocarbonetos (HC). O SO<sub>2</sub>, emitido pelos veículos a Diesel é um gás altamente prejudicial às vias respiratórias e está também associado a doenças cardiovasculares. O monóxido de carbono além de aumentar os riscos de problemas cardiovasculares e respiratórios, dificulta a irrigação do cérebro. Mortes prematuras decorrentes de doenças respiratórias têm sido atribuídas ao óxido de nitrogênio, que é emitido principalmente por veículos de transporte coletivo. Alguns dos

hidrocarbonetos, provenientes de combustíveis não queimados ou parcialmente queimados, liberados pelo motor de carros a gasolina (53%), veículos a diesel (21%) e carros a álcool (19%), diminuem a capacidade sanguínea de transportar oxigênio e afetam os sistemas cardiovascular, nervoso e os pulmões. Os hidrocarbonetos aromáticos constituintes do petróleo, benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno (BTEX), são potencialmente cancerígenos quando absorvidos em altas quantidades (RIBEIRO et al., 2003).

Efeitos genotóxicos do dióxido de enxofre e do óxido nitroso em plantas de *Tradescantia* foram descritos por Ma et al. (1982). Em outros estudos foram descritos em *Salmonella* e *Saccharomyces* os efeitos genotóxicos do monóxido de carbono e do chumbo (ARROYO et al. 1992; POLY et al., 1992).

Dados obtidos na cidade de São Paulo revelam que 77% de sua poluição atmosférica são devidos à emissão de gases pela frota de seis milhões de carros particulares que nela circulam. Este percentual é ainda mais expressivo quando se leva em conta o fato de que esta é uma cidade industrializada (CETESB, 2004).

Para a maioria dos grandes centros urbanos o que se observa é, portanto, o binômio desenvolvimento econômico/industrial e poluição. Em consequência disso, e de atividades devastadoras da natureza, não apenas a saúde humana é comprometida, mas também a própria sobrevivência do planeta.

Nas últimas décadas do século passado e início deste século são cada vez mais freqüentes os alertas clamando governantes para adoção de medidas efetivas de combate aos fatores que contribuem para por em risco a qualidade de vida e o equilíbrio dos ecossistemas.

Vale destacar que diversas medidas têm contribuído para reduzir a presença de poluentes emitidos dos veículos automotores. A redução dos níveis de enxofre no óleo diesel usado como combustível foi responsável, ao lado de outras medidas, pela diminuição em até 85% do dióxido de enxofre na cidade de São Paulo, observada em um período de 23 anos. Outra medida salutar foi a substituição do chumbo da gasolina pelo álcool, o que reduziu os níveis deste poluente em mais de 95%. O aprimoramento dos motores dos automóveis obtido com a introdução de catalisadores e injeção eletrônica contribuiu substancialmente para a redução do monóxido de carbono, cuja emissão foi reduzida em mais de 60% nos últimos vinte anos (CETESB, 2004).

Estas são sem dúvida medidas que contribuiram para contrariar previsões do fim da década de 70 que apontavam situações quase catastróficas, devidas ao impacto da poluição. Infelizmente, a despeito da redução dos níveis dos poluentes obtida por essas medidas, mais e mais pessoas são acometidas por doenças dos aparelhos respiratório e cardiovascular. A razão disto é o crescimento exponencial do número de veículos no país, cuja frota de carros duplicou em menos de 30 anos.

A persistência nas grandes cidades de altos níveis de poluentes destaca a necessidade de controle da qualidade do ar que seus habitantes respiram. O biomonitoramento ambiental é conduta que tem sido adotada nas sociedades desenvolvidas e tem despertado, em muitas delas, a introdução de novas medidas objetivando a minimização dos problemas gerados em consequência da poluição.

## **6. 2 Aspectos metodológicos importantes**

O Teste de Micronúcleo em *Tradescantia* (Trad-MCN) tem mais de vinte anos de história no campo do monitoramento ambiental, o que se deve à sua efetividade na detecção de danos cromossômicos, à simplicidade com que é executado e ao baixo custo financeiro de sua metodologia. Todas estas propriedades o credenciam como excelente ferramenta para esse tipo de monitoramento (ZENG et al., 1999).

Os mecanismos que levam à formação de micronúcleos envolvem tanto quebras cromossômicas quanto perdas anafásicas, de modo que o uso do Trad-MCN propicia a detecção da ação de agentes aneugênicos e clastogênicos. O teste, contudo, apresenta limitações por não revelar a ocorrência de rearranjos cromossômicos como translocações e inversões (MA, 1981).

Neste estudo, objetivando a obtenção de resultados fidedignos, a análise citogenética foi realizada por um único pesquisador e a presença de micronúcleo foi confirmada por um segundo pesquisador. É importante também ressaltar que previamente ao início do trabalho foi feita padronização da técnica para identificação de características da planta que propiciassem tétrades em estágio e número adequado para análise, a despeito da metodologia adotada já estar devidamente estabelecida.

### 6.3 Análise citogenética

As freqüências médias de micronúcleos em *Tradescantia pallida* (Rose) D.R. Hunt var. *purpurea* detectadas neste estudo são menores do que as descritas por Guimarães et al. (2000) na cidade de São Paulo ( $4,4 \pm 0,7$  na Av. Bandeirantes e  $2,3 \pm 0,3$  na Av. Doutor Arnaldo), o que não surpreende diante do fato de que esta é uma das dez cidades mais poluídas do mundo.

Na cidade do Salvador, Petric (2001) em estudo similar ao descrito na presente investigação, relatou freqüências de micronúcleos em quatro áreas desta cidade (Av. Anita Garibaldi, Parque Metropolitano de Pituacu, Faculdade de Arquitetura e Ladeira do Campo Santo), durante um período de estiagem (dezembro, janeiro e fevereiro) e um período chuvoso (julho, agosto e setembro). Comparando os dados obtidos no presente estudo, com os registrados por esse autor se observa que as freqüências de micronúcleos por ele descritas nos meses de estiagem, à exceção do ponto da Faculdade de Arquitetura, são maiores do que as aqui observadas. Vale ressaltar que a freqüência média registrada nas plantas da Av. Anita Garibaldi ( $6,15 \pm 0,59$ ) é maior até do que as observadas por Guimarães et al. (2000) na cidade de São Paulo.

Considerando as freqüências de micronúcleos descritas no estudo de Petric (2001) relativas ao período chuvoso, observa-se que estas são semelhantes às que foram detectadas neste estudo nos meses de janeiro e fevereiro. Os índices pluviométricos registrados pela Secretaria de Recursos Hídricos do Estado da Bahia nos meses de janeiro e fevereiro do ano de 2005 (140,5mm de H<sub>2</sub>O e 258,0mm de H<sub>2</sub>O, respectivamente), são semelhantes aos registrados por esta mesma secretaria no período chuvoso de 2001, fator que pode ter contribuído para este resultado.

A alta freqüência de micronúcleos observada nas plantas do canteiro localizado no Vale de Nazaré está relacionada ao elevado número de veículos que transitam por este ponto (6.766 veículos/hora em 1998), corroborando a idéia de que em locais com maior tráfego de veículos, a emissão de poluentes para a atmosfera é sensivelmente maior. Monarca et al. (1999) também descreveram maior freqüência de micronúcleos em plantas que foram expostas a amostras de ar coletadas em uma rua com tráfego intenso de veículos em comparação com locais de médio e pequeno tráfego. Resultados semelhantes foram descritos por Petric (2001).

A maior frequência de micronúcleos, observada nas plantas do canteiro localizado na esquina das ruas Waldemar Falcão/Lucaia em relação às plantas da Avenida Juracy Magalhães (área com fluxo razoavelmente intenso de veículos, mas em que as plantas apresentaram o menor número de micronúcleos), deve-se provavelmente ao fato de que esse canteiro fica localizado justaposto à subida de uma ladeira, o que faz com que os motoristas forcem mais o motor, com conseqüente emissão de uma quantidade maior de poluentes. Além disso, esse canteiro fica muito próximo a um semáforo que se localiza na Rua Lucaia e em conseqüência, a exposição é maior, pelo tempo em que os veículos permanecem parados enquanto o sinal está vermelho e pela maior emissão de gases na partida dos veículos quando o sinal verde acende. Adicionalmente, a Rua Lucaia tem fluxo médio de veículos: 3.527 veículos/hora em 2002.

As plantas do ponto amostral de Mont Serrat apresentaram frequência média de micronúcleos com valor intermediário entre as frequências detectadas para os outros pontos: menor do que a observada para as plantas da esquina das ruas Waldemar Falcão/Lucaia e Vale do Nazaré e maior do que a observada para o canteiro da Avenida Juracy Magalhães. Embora durante certa parte do ano o fluxo de veículos em Mont Serrat não seja intenso, ocorre um aumento significativo do fluxo de carros e de ônibus de turismo no período do verão e férias por se tratar de local visitado pelos turistas que nestes períodos são bastante numerosos na cidade do Salvador. Além do aumento no número de veículos automotores terrestres, aumenta também o número de veículos marítimos: lanchas particulares, transatlânticos e, sobretudo, ferry boats. A influência do aumento do fluxo de veículos provocada pelo afluxo de turistas sobre a frequência de micronúcleo, fica bem evidenciada quando se compara o somatório de micronúcleos observados nos meses de outubro, novembro e dezembro (60 micronúcleos) com o somatório dessas estruturas nos meses de janeiro e fevereiro (127 micronúcleos). Adicionalmente, quando se analisa a frequência de micronúcleos em função do tempo, observa-se significância marginal no aumento de micronúcleos em relação aos canteiros de Mont Serrat e Waldemar Falcão/Lucaia e não em relação aos outros pontos amostrais, sendo o valor obtido para Mont Serrat o mais próximo da significância estatística ao nível de 0,05.

Apesar do fluxo razoavelmente intenso de veículos (5.054 veículos/hora em 2002) na Avenida Juracy Magalhães, as plantas do canteiro nela localizado

apresentaram a menor frequência média de micronúcleos o que é possível se deva ao fato de que este é um canteiro particular da Secretaria da Fazenda, regado durante a maior parte do dia por um regador automático. Provavelmente, esse regador simula uma situação de chuva constante fato que, conforme sugerido no estudo de Petric (2001), está relacionado à menor frequência de micronúcleos.

Na avaliação dos efeitos genotóxicos da poluição atmosférica, além das chuvas, outros fatores podem estar influenciando a dispersão dos poluentes, a exemplo da direção do vento, das oscilações de temperatura e da própria localização geográfica.

## 7. CONCLUSÕES

O Teste de Micronúcleo em *Tradescantia* (Trad-MCN) pareceu efetivo em detectar a ação de poluentes atmosféricos na indução de danos cromossômicos;

Substâncias liberadas na atmosfera de Salvador por veículos automotores provavelmente induzem à ocorrência de danos citogenéticos;

Os efeitos genéticos da poluição atmosférica nas plantas amostradas estão, possivelmente, diretamente relacionados à maior emissão de poluentes pelos veículos automotores, seja por um maior fluxo, seja por condições que favorecem maior queima de combustíveis a exemplo de ladeiras e “arrancadas” de veículos.

## 8. REFERÊNCIAS

ARROYO, P.L.; HATCHPIGOTT, V.; MOWEWR, H.F.; COONEY, R.V. Mutagenicity of nitric-oxide and its inhibition by antioxidants. **Mutation Research**, 426, 117-120. 1992.

ARUTYUNYAN, R.M.; POGOSYAN, V.S.; SIMONYAN, E.H.; ATOYANTS, A.L.; DJIGARDJIAN, E.M. In situ monitoring of the ambient air around the chloroprene rubber industrial plant using Tradescantia- stamen- hair mutation assay. **Mutation Research**, 426: 117-120, 1999.

BARBOSA, A. T. **Nicotina tabacum, L. Como bioindicador da Poluição Atmosférica na Cidade de Salvador**. Salvador: 2001. (Relatório de Bolsa de Iniciação Científica - PIBIC, Instituto de Biologia, Universidade Federal da Bahia).

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. . Exploring the clastogenic effects of air pollutants in São Paulo (Brazil) using the Tradescantia micronuclei assay. **Mutation Research**, 426: 229 – 232., 1999.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Instituto Nacional de Câncer (INCA) Coordenadoria de Programas de Controle do Câncer (Pro- Onco). **Câncer de Boca: Manual de Detecção de Lesões Suspeitas**, Rio de Janeiro , p. 7-10, 1996.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Instituto Nacional do Câncer (INCA) Coordenadoria de Programas de Controle do Câncer (Pro-Onco). **Câncer de Boca: Manual de Detecção de Lesões Suspeitas**, Rio de Janeiro, 2002.

BRAUER, M.; HOEK, G.; VAN VLIET, P.; MELIEFSTE, K.; FISCHER, P.H.; WIJGA, A.; KOOPMAN, L.P.; NEIJENS, HJ.; GERRITSEN, J.; KERKHOF, M.; HEINRICH, J.; BELLANDER, T.; BRUNEKEEF, B.. Air pollution from traffic and the development of respiratory infections and asthmatic and allergic symptoms in children. **Am. J. Respr. Crit. Care. Med.**, 166 (8): 1092-8, 2002.

BRUNEKREEF, B.; HOLGATE, S.T. Air pollution and health. **Lancet.**, 360(9341): 1233-1242, 2002.

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. AND SALDIVA, P. H. N. Diesel emissions significantly influence composition and

mutagenicity of ambient particles: a case study in São Paulo, Brazil. **Environmental Research**, 98, 1-7, 2005.

COHEN, J.T.; CARLSON, G.; CHARNLEY, G.; COGGON, D.; DELZELL, E.; GRAHAM, J.D.; GREIM, H.; KREWSKI, D.; MEDINSKY, M.; MONSON, R.; PAUSTENBACH, D.; PETERSEN, B.; RAPPAPORT, S.; RHOMBERG, L.; RYAN, P.B. A comprehensive evaluation of the potential health risks associated with occupation and environmental exposure to styrene. **J. Toxicol. Environ. Heal. B** 5 (1 – 2), 1-265, 2002.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL -CETESB, 2004. Relatório de Qualidade do Ar no Estado de São Paulo, 2004. Série Relatórios. Disponível em: <[http://www.cetesb.sp.gov.br/Ar/ar\\_geral.asp](http://www.cetesb.sp.gov.br/Ar/ar_geral.asp)> Acesso em: 28 Julho de 2005.

DETRAN-BA. Estatísticas Gerais. Veículos. Frota dos municípios por Ciretrans e Municípios. Disponível em: <<http://www.detran.ba.gov.br/estatistica/index.php>> Acesso em: 28 de Julho de 2005.

EVANS, H.J.; NEARY, G.J.; WILLIAMSON, F.S. The relative biological efficiency of single doses of fast neutrons and gamma rays in *Vicia faba* roots and effect of oxygen:Part II ,Chromossome damage; the production of micronuclei **Int.J.Rad.Biol.**, 1: 230-240, 1959.

EVANS, H. J. Historical perspectives on the development of the in vitro micronucleus test: a personal view. **Mutation Research**, 392: 05 – 10, 1997.

GICHNER, T.; VELEMINSKY, J. Monitoring the genotoxicity of soil extracts from two heavily polluted sites in Prague using the *Tradescantia* stamen hair and micronucleus (MCN) assays. **Mutation Research**, 426: 163-166, 1999.

GRANT, W.F., The present status of higher plant bioassay for the detection of environmental. **Mutation Research**, 310: 175-185, 1994.

GUIMARÃES, E.T.; DOMINGOS, M.; ALVES, E.S.; CALDINI JR, N.; LOBO, D.J.A.; LICHTENFELS, A.J.F.C.; SALDIVA, P.H.N. 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**, 2000.

HEDDLE, J.A. A rapid in vitro test for chromosomal damage. **Mutation Research**, 18:1987-1990, 1983.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E CIÊNCIAS (IBGE). Estimativas de População. Tabela de estimativas por município. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/>>. Acesso em: 28 de Julho de 2005.

ISIDORI, M.; FERRARA, M.; LAVORGNA, M.; NARDELLI, A.; PARRELA, A. *In situ* monitoring of urban air in Southern Italy with the *Tradescantia* micronucleus bioassays and semipermeable membrane devices (SPMDs). **Chemosphere**, 52: 121 – 126, 2003.

LEACH, N.T. & JACKSON-COOK, C. The application of spectral karyotyping (SKY) and fluorescent *in situ* hybridization (FISH) technology to determine the chromosomal content(s) of micronuclei. **Mutation Research**, 495:11-19, 2001.

MA, T.H. Tradescantia Micronucleus Bioassays and Pollen Tube Chromatid Aberration Test for *in situ* Monitoring and Mutagen Screening. **Environmental Health Perspectives**, Vol.37. 85-90. 1981.

MA, T. H.; ANDERSON, V.A.; AHMED, I. Environmental clastogens detected by meiotic pollen mother cells of *Tradescantia*. In: TICE, R. R., COSTA, D.L., SCHAICH, K.M. (Eds.), *Genotoxic Effects of Airborne Agents*. **Environmental Science Research**, vol. 25. Plenum Press. New York, 141-157. 1982.

MA, T.H. Tradescantia micronucleus (TRAD-MCN) test of environmental clastogens, In: A.R. KOLBER, T.K.WONG, L.D.GRANT, R.S. DEWONKI AND T.J.HUGHES(Eds.), **In vitro Toxicity Testing of Environmental Agents, Current and Future Possibilities**, Plenum, New York, pp.191-214, .1983

MA, T.H.; CABRERA, G.L.; CHEN, R.; GILL, B.S.; SANDHU, S.S.; VANDENBERG, A.L.; SALAMONE, M.F. Tradescantia micronucleus bioassay. **Mutation Research**, 310: 221-230, 1994.

MAJER, B. J.; LAKY, B.; KNASMÜLLER, S.; KASSIE, F. Use of The micronucleus assay with exfoliated epithelial cells as a biomarker for monitoring individuals at elevated risk of genetic damage and in chemoprevention trials. **Mutation Research**, 489: 147 – 172, 2001.

MINOUFLET, MARION; AYRAULT, SOPHIE; BADOT, PIERRE-MARIE; COTELLE, SYLVIE; FERARD, JEAN- FRANÇOIS. Assessment of the genotoxicity of <sup>137</sup>Cs radiation using *Vicia*-micronucleus, *Tradescantia*-micronucleus and *Tradescantia*-

stamen-hair mutation bioassays. **Journal of Environmental Radioactivity**, 81: 143-153, 2005.

MONARCA, S.; FERRETI, D.; ZANARDINI, A.; FALISTOCCO, E.; NARDI, G. Monitoring of mutagens in urban air sample. **Mutation Research**, 426: 189-192, 1999.

OLIVEIRA, J. A.; FARIA, S. L. **Câncer**, São Paulo: Contexto, 63 p., 1997.

PEREIRA, F.H.K; JEDRYCHOWSKY, W.; WHYATT, R.; CAMPBELL, U; HSU, Y; SANTELLA, R; ALBERTINI, R; O`NEIL, J.P. In útero damage from environmental pollution is associated with somatic gene mutation in newborns. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.**, 11 (10): 1134-7, 2002.

PETRIC, E.G. **Tradescantia pallida c.v. purpurea na avaliação da qualidade da qualidade do ar de Salvador**. Relatório de Bolsa de Iniciação Científica-PIBIC, Instituto de Biologia, Universidade Federal da Bahia, 2001.

POLI, P.; BUSCHINI, A.; CAMPANINI, N.; VETTORI, M.V.; CASSONI, F.; CATTANI, S.; ROSSI, C. Urban air-pollution-use of different mutagenicity assays to evaluate environmental genetic hazard. **Mutation Research**. 292: 113-123, 1992.

RABELLO-GAY, M. N.; RODRIGUES, M. A; LA, R.; MAONTELEONE NETO, R. **Mutagênese, carcinogênese e teratogênese: Métodos e critérios de avaliação**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Genética, 113-121, 1991.

REPETTO, M. (ORG.) **Toxicología avanzada**. Madrid: Díaz de Santos S.A. ediciones, 1995.

RIBEIRO, F.A.L.; MO, S.; SCHNEIDER, R.P.; FERREIRA, M.M.C. "Validation of the methodology for BTEX determination in ambiental samples by means of GC/MS with headspace injection". São Luiz, MA, 14-17/10/2003: **XXII Encontro Nacional de Química Analítica (XII ENQA)**. Caderno Eletrônico de Resumos (CD-ROM). 2003.

RODRIGUES, G.S.; MA, T.H.; PIMENTEL, D.; WEINSTEIN, L.H. *Tradescantia* bioassay as monitoring systems for enviromental mutagenesis:a review . **Critical Reviews in Plant Science**, 16: 325-359, 1997.

RODRIGUES, G.S.; MA, T.H.; PIMENTEL, D.; WEINSTEIN, L.H. *In situ* assessment of pesticide genotoxicity in na integrated pest management program I – *Tradescantia* micronucleus assay. **Mutation Research**, 412: 235 – 244, 1998.

SOKLAL, R.R.; ROHLF, F. J. **Biometry: the principles and practice of statistics in biological research**. W. H. Freeman and Company. New York. 887p, 1995.

TORRES-BUGARÍN, O.; DE ANDA-CASILLAS, A.; RAMÍREZ-MUÑOZ, M.P.; SÁNCHEZ-CORONA, J.; CANTÚ, J. M. & ZÚÑIGA, G. . Determination of diesel genotoxicity in firebreathers by micronuclei and nuclear abnormalities in buccal mucosa. **Mutation. Research**, 413: 277 – 281, 1998.

TUKEY, J. W.. **Exploratory data analysis**. Addison-Wesley Publishing Company, Reading.. 506p, 1977.

ZAR, J.H. **Biostatistical Analysis**. Prentice-Hall Upper Sadle River. 929p, 1999.

ZENG, DINGMU; LI, YI; QINGQIANG, LIN. Pollution monitoring of three rivers passing through Fuzhou City, People's Republic of China. **Mutation Research**, 426: 159-161, 1999.

WADA, M.; KIDO, H.; KISHIKAWA, N.; TOU, T.; TANAKA, M.; TSUBOKURA, J.; SHIRONITA, M.; MATSUI.; KURODA, N.; NAKASHIMA, K.. Assessment of air pollution in Nagasaki City: determination of polycyclic aromatic hydrocarbons and their nitrated derivatives, and some metals. **Environ. Pollut.**, 115: 139 – 147, 2001.

WEINBERG, R.A. Uma célula renegada \_ como o câncer começa. Rio de Janeiro. **Ciência Atual**, Rocco, 2000.