

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

CAMILA BONIFÁCIO DANTAS

**APLICABILIDADE DOS TESTES TRAD-MCN E PARÂMETROS ANATÔMICOS
FOLIARES DE *Tradescantia pallida* (Rose) D.R. HUNT var. *purpurea* ASSOCIADOS
AO TRÁFEGO VEICULAR DIFERENCIADO EM CIDADE DE CLIMA
TROPICAL DE ALTITUDE**

Dourados – MS

2015

CAMILA BONIFÁCIO DANTAS

**APLICABILIDADE DOS TESTES TRAD-MCN E PARÂMETROS ANATÔMICOS
FOLIARES DE *Tradescantia pallida* (Rose) D.R. HUNT var. *purpurea* ASSOCIADOS
AO TRÁFEGO VEICULAR DIFERENCIADO EM CIDADE DE CLIMA
TROPICAL DE ALTITUDE**

Trabalho de Conclusão de Curso de
graduação para obtenção do título de
Bacharel em Biotecnologia. Faculdade de
Ciências Biológicas e Ambientais,
Universidade Federal da Grande Dourados.
Orientadora: Profa. Dra. Alexeia Barufatti
Grisolia

Dourados – MS

2015

CAMILA BONIFÁCIO DANTAS

**APLICABILIDADE DOS TESTES TRAD-MCN E PARÂMETROS ANATÔMICOS
FOLIARES DE *Tradescantia pallida* (Rose) D.R. HUNT var. *purpurea* ASSOCIADOS
AO TRÁFEGO VEICULAR DIFERENCIADO EM CIDADE DE CLIMA
TROPICAL DE ALTITUDE**

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais da Universidade Federal da Grande Dourados, pela comissão formada por:

Profa. Dra. Alexeia Barufatti Grisolia

Profa. Dra. Rosilda Mara Mussury Franco Silva

MSc. Bruno do Amaral Crispim

Dourados – MS

2015

Agradecimentos

A Universidade Federal da Grande Dourados, pelo espaço disponível para a realização da pesquisa e pela assistência e suporte oferecido ao acadêmico. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pelo financiamento da pesquisa.

A Deus, por ter a oportunidade de estar cursando uma faculdade, por me dar saúde e força para vencer todos os obstáculos e por me guiar sempre pelo caminho certo.

Aos meus pais, por lutarem e fazerem de tudo que estava a seu alcance para que eu pudesse concluir o ensino superior, pelas palavras de incentivo e força nos momentos mais difíceis e por sempre celebrarem cada conquista ao meu lado. As minhas irmãs Rafaela e Renata por sempre estarem comigo e me apoiarem em todos momentos independente da distância física que nos separa.

A III turma de Biotecnologia por ter se tornado uma família dentro da faculdade, sempre unidos e se ajudando, em especial aos amigos mais próximos, que Deus colocou em meu caminho para que essa jornada se tornasse mais leve e feliz, Alisson Alves, Andrea Renata, Ana Paula, Jessica Celeste e Jessica Lie.

A minha orientadora Professora Doutora Alexeia Barufatti Grisolia pelo conhecimento transmitido, pela oportunidade de fazer parte do seu grupo de pesquisa, pela paciência e dedicação, sempre buscando alternativas para resolver nossos problemas, sendo um exemplo de determinação e força para alcançarmos nossos objetivos e também a Professora Doutora Rosilda Mara Mussury por sempre estar disposta a colaborar com o desenvolvimento da pesquisa.

Aos Colegas de laboratório por estarem sempre estarem a disposição para ajudar e compartilhar seus conhecimentos, em especial a Juliana Spósito e Bruno Crispim.

Dedico aos meus Pais pelo apoio incondicional em todos os momentos e acima de tudo a Deus por me dar sabedoria, discernimento e perseverança que me levaram a alcançar meus objetivos e realizar meus sonhos.

SUMÁRIO

RESUMO	7
INTRODUÇÃO	7
MÉTODOS	9
RESULTADOS.....	15
DISCUSSÃO.....	19
CONCLUSÕES	20
REFERÊNCIAS	21

APLICABILIDADE DOS TESTES TRAD-MCN E PARÂMETROS ANATÔMICOS FOLIARES DE *Tradescantia pallida* (Rose) D.R. HUNT var. *purpurea* ASSOCIADOS AO TRÁFEGO VEICULAR DIFERENCIADO EM CIDADE DE CLIMA TROPICAL DE ALTITUDE

As normas referentes a elaboração desse trabalho foram baseadas no Journal Environmental Science and Pollution Research

Qualis: B1, para área de Biotecnologia

Fator de Impacto: 2.828

Link para instrução aos autores:

<http://www.springer.com/environment/journal/11356>

APLICABILIDADE DOS TESTES TRAD-MCN E PARÂMETROS ANATÔMICOS FOLIARES DE *Tradescantia pallida* (Rose) D.R. HUNT var. *purpurea* ASSOCIADOS AO TRÁFEGO VEICULAR DIFERENCIADO EM CIDADE DE CLIMA TROPICAL DE ALTITUDE

Camila Bonifácio Dantas¹; Juliana Caroline Vivian Spósito²; Amanda Izadora Romão¹; Rosilda Mara Mussury¹; Alexeia Barufatti Grisolia¹

¹ Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, Universidade Federal da Grande Dourados – MS ² Faculdade de Ciências Exatas e Tecnologia, Universidade Federal da Grande Dourados – MS.

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo avaliar a aplicabilidades dos testes Trad-MCN e parâmetros anatômicos foliares de *Tradescantia pallida* em vinte pontos da cidade de Dourados – MS com tráfego veicular diferenciado, bem como associa-los a variáveis climáticas. Para tanto, inflorescências jovens e folhas de *T. pallida* foram coletadas em três diferentes épocas do ano para análise de índice e densidade estomática e Trad-MCN, em vinte pontos amostrais do município de Dourados, MS. Além de material biológico também foram coletados dados meteorológicos como temperatura, umidade relativa do ar e pluviosidade, além de ser realizada contagem de veículos para determinação a intensidade do tráfego veicular em cada ponto. Os resultados demonstraram que a *Tradescantia pallida* apresentou diferenças anatômicas em termos de índice e densidade estomática e variações quanto à quantidade de micronúcleos conforme a intensidade de tráfego veicular de cada local apresentando variações também de acordo com diferentes períodos avaliados. Diante do exposto, conclui-se que o teste de Trad-MCN e os parâmetros anatômicos analisados em *T. pallida* nos 20 pontos estudados, demonstraram ser eficazes para avaliação dos efeitos causados pelo tráfego veicular diferenciado na cidade de Dourados – Ms, quando associados as diferentes condições de umidade relativa do ar e pluviosidade, em diferentes períodos do ano.

Palavras chave: Biomonitoramento, tétrades, micronúcleo, variáveis climáticas, índice estomático, densidade estomática.

INTRODUÇÃO

A globalização e o avanço acelerado da economia, principalmente nos países em desenvolvimento, têm contribuído para o agravamento da degradação do meio ambiente decorrente principalmente dos efeitos dos sistemas produtivos, urbanização e hábitos de consumo das populações. Sendo as indústrias e os veículos automotores as principais

fontes de emissão de poluentes na atmosfera, refletindo diretamente na qualidade de vida dos indivíduos e no equilíbrio do ecossistema em geral (Braga et al. 2001).

A poluição veicular, ocasionada pela queima de combustíveis, é responsável pela liberação na atmosfera de substâncias como: metais pesados, partículas de compostos orgânicos e inorgânicos, que oferecem riscos ambientais e à saúde da população (Pereira et al. 2013). Os poluentes atmosféricos mais encontrados nos centros urbanos são: monóxido de carbono (CO), dióxido de carbono (CO₂), óxido de nitrogênio (NO), dióxido de enxofre (SO₂), hidrocarbonetos e materiais particulados, que são provenientes das indústrias e veículos automotores. Algumas dessas substâncias apresentam características mutagênicas e carcinogênicas (Guariero et al. 2011; Umbuzeiro et al. 2008; Carreras et al. 2006).

Fatores climáticos também podem influenciar na qualidade do ar em relação a concentração de gases poluentes. Períodos com baixa umidade do ar e pouco vento, dificultam a dispersão e levam ao aumento da concentração de alguns poluentes, como: monóxido de carbono, material particulado e dióxido de enxofre. Nos períodos mais ensolarados, como primavera e verão, há tendência de aumento da concentração do ozônio, por ser um poluente secundário que depende da intensidade de luz solar para ser formado (Pereira et al. 2013).

O biomonitoramento é um método que permite avaliar o efeito de substâncias mutagênicas e carcinogênicas sobre organismos vivos, conhecidos como bioindicadores. Dentre os bioindicadores utilizados para avaliar a qualidade do ar, as plantas têm sido comumente utilizadas por apresentarem vantagens como maior número de amostragens, baixo custo operacional e maior sensibilidade (Meireles et al. 2009).

Plantas bioindicadoras não apresentam sintomas visíveis aos poluentes atmosféricos, os danos restringem-se a alterações à nível molecular, celular, além de distúrbios fisiológicos (De Temmerman et al. 2004). O biomonitoramento pode fornecer uma informação integrada sobre os impactos da qualidade do ar (Nali et al. 2007).

Dentre as plantas utilizadas no biomonitoramento atmosférico, a *Tradescantia pallida* tem se destacado, por ser uma planta ornamental e de fácil adaptação em diversos ambientes, sendo encontrada em jardins e canteiros de muitas cidades, se desenvolver durante todo o ano e apresenta alta resistência a parasitas e insetos. Por suas características favoráveis, tem sido utilizada para monitorar a poluição ambiental por meio de bioensaios (Suyama et al. 2002; Carvalho 2005).

Os parâmetros anatômicos como características estomáticas, têm provado ser um indicador útil da qualidade do ar. Os poluentes entram na planta junto com o ar, através dos estômatos no processo de respiração, fazendo da folha um dos órgãos da planta mais susceptível à poluição, possibilitando assim, o estudo de interação da planta com o ambiente ao qual ela é exposta (Balasooriya et al. 2009; Kardel et al. 2010).

As plantas são capazes de alterar suas características estomáticas em resposta as condições de seu habitat, controlando a abertura e fechamento do ostíolo, principalmente para otimizar a troca de CO₂ e vapor de água. Alterações na densidade, distribuição e morfologia dos estômatos podem ser afetados pela poluição atmosférica (Balasooriya et al. 2009; Kardel et al. 2010).

A identificação de alterações genéticas em *T. pallida* também é caracterizada como um método eficiente na avaliação de danos ocasionados por substâncias mutagênicas presentes na atmosfera. Dentre os testes empregados para identificação de alterações no material genético, ocasionados por poluentes atmosférico, destaca-se o teste de Micronúcleo em *Tradescantia pallida* (Trad-MCN) (Boettcher et al. 2010).

O teste Trad-MCN é um dos ensaios mais utilizados para a detecção de efeitos mutagênicos em organismos. O teste é fundamentado na formação de micronúcleos, que são resultantes de quebras nos cromossomos (eventos clastogênicos) ou perda de cromossomos inteiros (eventos aneugênicos), durante a meiose das inflorescências da *Tradescantia ssp.* O ensaio Trad-MCN tem sido aplicado em diversos estudos para avaliar o potencial mutagênico de diversos agentes provenientes da poluição atmosférica (Spósito et al. 2015; Crispim et al. 2014; Isidori et al. 2003; Guimarães et al. 2000).

Sendo assim, o presente estudo teve como objetivo, avaliar a aplicabilidades dos testes Trad-MCN e parâmetros anatômicos foliares de *Tradescantia pallida* em vinte pontos da cidade de Dourados – MS com tráfego veicular diferenciado, bem como associa-los a variáveis climáticas.

MÉTODOS

Caracterização dos locais de coleta:

A cidade de Dourados, localizada no sul do Estado de Mato Grosso do Sul na região Centro-Oeste do Brasil, é a segunda maior cidade do estado em população, com aproximadamente 377.842 habitantes e 207.710 veículos, concentrando grande parte da

frota veicular do Estado. Possui área total de 4.086,237 km², apresentando clima tropical úmido no verão e seco no inverno, com algumas geadas (DENATRAN 2014; IBGE 2014).

Para o biomonitoramento foram selecionados 20 canteiros de *T. pallida* localizados em diferentes pontos do município de Dourados, MS(conforme ilustrados na Fig. 1 e caracterizado na Tabela 1). Os locais foram selecionados de acordo com a intensidade do tráfego de veículos, o local P18 foi utilizado como controle por apresentar o menor fluxo de veículos.

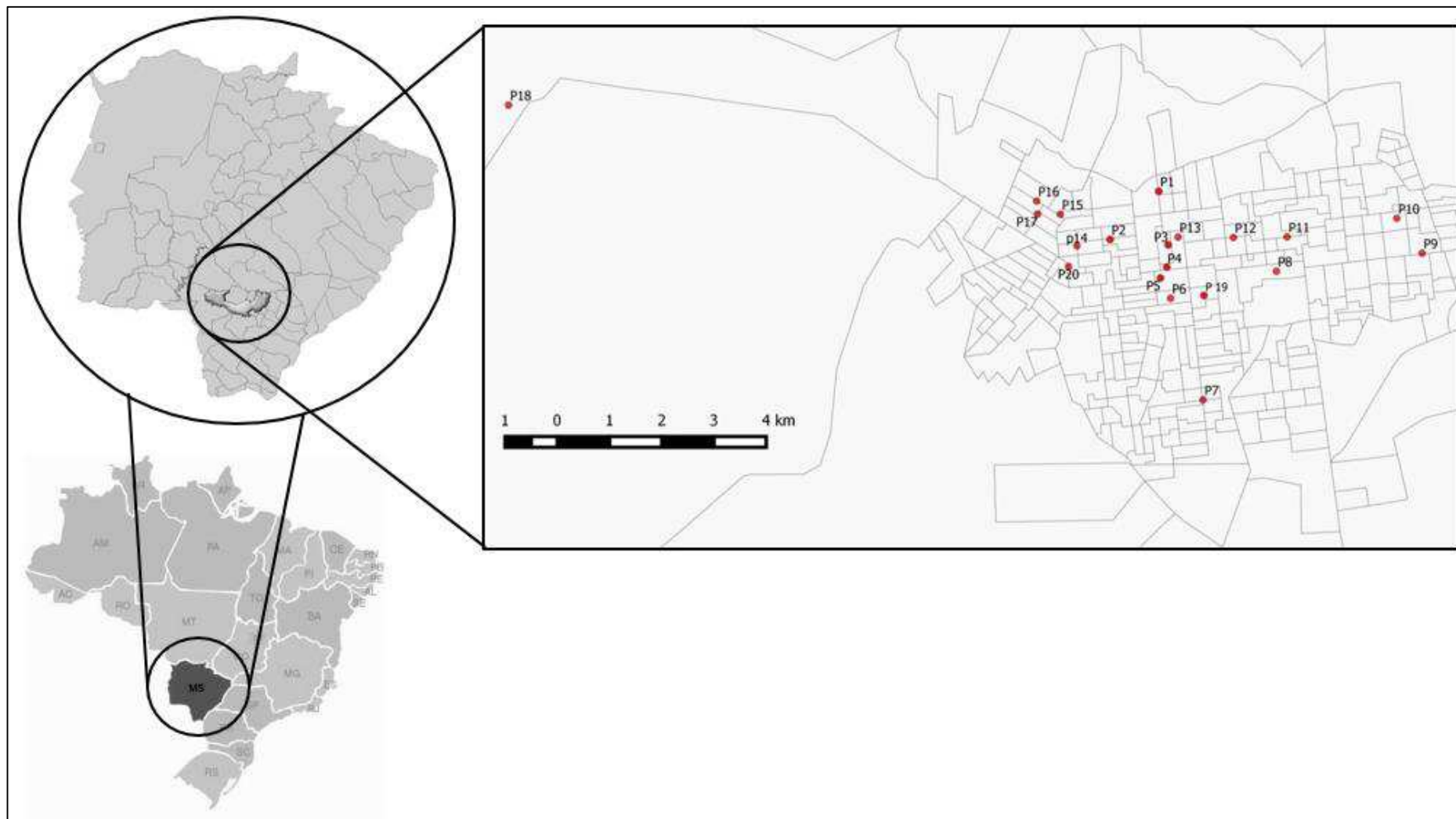


Fig. 1 Mapa do município de Dourados, mostrando a localização dos pontos biomonitorados

Tabela 1 Caracterização dos pontos de biomonitoramento, com suas localidades e tráfego veicular

Ponto	Coordenadas	Área residencial	Área Comercial	Zona Urbana	Tráfego veicular
P1	22°12'43.24"S 54°48'49.40"O	Sim	Não	Sim	859
P2	22°13'13.07"S 54°49'21.83"O	Sim	Não	Sim	865
P3	22°13'16.42"S 54°48'42.94"O	Sim	Não	Sim	920
P4	22°13'30.19"S 54°48'43.86"O	Não	Sim	Sim	1067
P5	22°13'36.94"S 54°48'48.13"O	Não	Sim	Sim	1246
P6	22°13'49.54"S 54°48'41.37"O	Não	Sim	Sim	781
P7	22°14'52.56"S 54°48'19.61"O	Não	Sim	Sim	1328
P8	22°13'32.75"S 54°47'30.51"O	Não	Sim	Sim	2866
P9	22°13'21.56"S 54°45'53.10"O	Não	Sim	Sim	1066
P10	22°12'59.89"S 54°46'9.99"O	Sim	Não	Sim	1340
P11	22°13'11.45"S 54°47'23.40"O	Sim	Não	Sim	110
P12	22°13'11.83"S 54°47'59.29"O	Sim	Não	Sim	863
P13	22°13'11.57"S 54°48'36.34"O	Sim	Não	Sim	262
P14	22°13'16.98"S 54°49'43.98"O	Sim	Não	Sim	116
P15	22°12'57.40"S 54°49'55.06"O	Sim	Não	Sim	75
P16	22°12'49.16"S 4°50'10.95"O	Sim	Não	Sim	236
P17	22°12'57.27"S 4°50'10.33"O	Sim	Não	Sim	212
P18	22°11'49.63"S 54°56'4.23"O	Não	Não	Não	40
P19	22°13'47.79"S 4°48'19.01"O	Não	Sim	Sim	724
P20	22°13'29.79"S 4°49'49.60"O	Sim	Não	Sim	386

Dados Meteorológicos

Dados referentes a temperatura, umidade relativa do ar e pluviosidade, foram obtidos nos períodos avaliados (Janeiro, Abril e Agosto de 2014), a partir da plataforma Embrapa (2014). Para tanto, foram calculados valores médios destes parâmetros, baseados em valores oriundos de um período de 15 dias (tempo necessário para maturação das anteras) anteriores à data da coleta de material biológico. As médias desses dados são apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2 Dados meteorológicos da cidade de Dourados (MS) durante os períodos de coleta (Embrapa, 2014).

	TEMPERATURA	UMIDADE	PRECIPITAÇÃO
	(°C)	(%)	(mm)
Janeiro	25,21	81	8,41
Abril	20,2	74	1,64
Agosto	20,63	67	0,36

Dados de Tráfego Veicular

A avaliação do tráfego veicular foi realizada após o período de biomonitoramento, por meio de contagem de veículos em cada um dos locais em estudo (P1 a P20), em três horários ao longo do dia (7h30min – 8h30min; 11h – 12h e 16h – 17h). Após a contagem obteve-se a média da frota de veículos circulantes por hora, para cada local estudado

Dados Biológicos

Para a avaliação dos parâmetros anatômicos foliares (índice estomático (IE) e densidade estomática (DE)) e genéticos, em tétrades de *Tradescantia pallida*, (quantidade de micronúcleos (MCN)), foram realizadas coletas de folhas e inflorescências nos vinte pontos amostrais em três períodos do ano (janeiro, abril e agosto).

Análises Estomáticas

Para realização das análises estomáticas foram coletadas 5 folhas de diferentes plantas de forma aleatória de cada ponto amostral. Essas análises foram realizadas por meio de impressões foliares da região mediana do limbo na face abaxial da epiderme utilizando-se cola Super Bonder®. De cada local foram preparadas 5 lâminas para cada período, totalizando 300 lâminas com impressões foliares. Estas foram visualizadas e fotografadas em microscópio binocular, no aumento de 40X com câmara fotográfica

acoplada e programa de captura de imagem Moticam 2300 3.0MP live Resolution, como mostra a Fig.2. A partir do material fotografado foram avaliados o índice e a densidade estomática por meio do programa ANATI QUANTI (Aguiar et al. 2007). Para análise estomática foi realizada a contagem de células epidérmicas e estômatos (por mm²) de cada lâmina.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 20 x 3 (20 pontos x 3 períodos) com 5 repetições, sendo os dados submetidos a ANOVA e comparados pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. O índice estomático de cada ponto foi calculado empregando a fórmula de Salisbury apresentada por Wilkinson (1979).



Fig. 2 Impressão foliar de *Tradescantia pallida*, observada no aumento de 40x (1 - célula estomática e 2 - célula epidérmica)
Fonte: Dantas, 2014

Análise de Trad-MCN

Para o teste de Trad-MCN inflorescências jovens de *T. pallida* foram coletadas durante o período de Janeiro, Abril e Agosto de 2014. Em seguida, os botões florais foram fixados em Carnoy (etanol 3: 1 ácido acético) e após 24 horas conservados em álcool 70%.

Frequências de micronúcleo foram determinadas usando o protocolo estabelecido por Ma (1981) e adaptada por Crispim et al. (2012). Para cada ponto amostral foram preparadas três lâminas de diferentes botões florais, correspondentes a cada período de coleta e coradas com carmim acético (2%). A contagem de micronúcleos (Fig. 3), foi realizada em 300 tétrades de cada lâmina em microscópio óptico no aumento total de

400X. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 20 x 3 (20 pontos x 3 períodos) com 3 repetições, sendo os dados submetidos a ANOVA e comparados pelo teste Tukey a 5% de probabilidade, os dados foram transformados de forma não linear com a fórmula: $\sqrt{x + 0,5}$, para diminuição da variância.



Fig. 3: Micronúcleos (apontados pela seta) em tétrade de *Tradescantia pallida* em aumento de 100x.

Fonte: Spósito, 2015

RESULTADOS

Os resultados referentes a análise de variância dos micronúcleos, índice estomático e densidade estomática, encontram-se na Tabela 3.

Tabela 3 Causas da variação, graus de liberdade (G.L), e quadrado médio do MCN, IE e DE encontrado em *Tradescantia pallida*.

Causas da variação	G.L	Quadrado Médio		
		MCN	IE	DE
Local	19	6,47*	57,57*	13,86*
Períodos	2	20,84*	26,75*	229,51*
Loc*Per	38	3,84*	57,74*	14,03*
CV (%)		7,84	14,89	18,36

*Significativo ($p < 0,05$), CV (coeficiente de variação) MCN (micronúcleo) IE (índice estomático) DE (densidade estomática)

Pode-se observar na Tabela 3 que houve influência significativa para as variáveis local, períodos e também houve interação significativa para local x período para todos os

parâmetros avaliados (MCN, IE e DE). Indicando que tanto tráfego de veículos quanto as variáveis climáticas (tabela 2) observadas nos diferentes períodos, podem influenciar nos danos genéticos observados em *Tradescantia pallida*.

O IE, DE e médias de micronúcleos (MCN), juntamente com o tráfego veicular de cada local estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 Índice estomático, densidade estomática e a de número de micronúcleos (MCN) observados em de *Tradescantia* nos três períodos, nos vinte diferentes locais de coleta, juntamente com o tráfego veicular.

Pontos	Janeiro			Abril			Agosto			Tráfego Veicular
	MCN	IE	DE	MCN	IE	DE	MCN	IE	DE	
P1	8,62 abcd B	16,92 a A	4,41 ab B	12,63 efgh A	16,45 ab A	4,76 abc B	13,3 e A	18,32 a A	8,75 abc A	859
P2	9,51 abcd B	18,73 a A	4,19 ab B	11,87 fghi B	17,56 a A	4,54 abc B	21,56 d A	17,93 a A	9,19 ab A	865
P3	6,97 bcde B	14,88 a AB	3,17 b B	9,32 hij B	11,89 b B	2,64 c B	20,31 d A	16,65 a AB	5,44 ef A	920
P4	-	17,83 a A	5,51 a A	20,28 abcd A	15,87 ab A	4,67 abc A	-	-	-	1067
P5	12,25 a C	18,37 a A	5,47 a B	18,29 bcde B	13,83 ab B	4,19 abc B	23,29 bcd A	18,63 a A	8,97 ab A	1246
P6	10,6 3abc C	14,78 a A	4,49 ab B	14,98 defg B	15,18 ab A	4,23 abc B	20,92 d A	15,57 a A	8,09 abcd A	781
P7	10,94 abc B	16,23 a A	4,27 ab B	27,97 a A	15,7 ab A	4,23 abc B	30,65 ab A	18,45 a A	8,45 abcd A	1328
P8	10,95 abc B	15,87 a A	4,67 ab B	22,65 abc A	17,81 a A	4,8 abc B	22,28 cd A	17,93 a A	8,31 abcd A	2866
P9	9,55 abcd A	14,88 a AB	4,14 ab B	24,55 ab B	14,11 ab B	4,14 abc B	-	17,95 a A	6,69 cdef A	1066
P10	11,87 ab B	18,78 a A	5,03 ab B	15,3 defg B	18,38 a A	5,42 a B	32,28 a A	16,57 a A	7,94 abcd A	1340
P11	8,21 abcd B	16,58 a A	4,98 ab B	20,45 abcd A	17,03 ab A	4,01abc B	21,58 d A	16,51 a A	7,72 abcd A	110
P12	9,22 abcd A	17,68 a A	5,47 a A	15,31 defg B	15,03 ab A	4,36 abc A	-	-	-	863
P13	8,98 abcd B	16,82 a A	5,03 ab B	19,97 bcd A	16,13 ab A	4,98 ab B	20,19 d A	18,54 a A	8,68 abcd A	262
P14	6,6 cde A	16,43 a A	4,28 ab B	10,63 ghij B	17,86 a A	4,49 abc B	-	16,84 a A	7,06 bcde A	116
P15	6,27cde B	15,68 a A	4,89 ab B	16,64 cdef A	15,63 ab A	4,45 abc B	17,91 de A	16,05 a A	7,43 bcde A	75
P16	6,32 cde B	16,51 a A	2,95 b C	7,32 ij B	17,1 ab A	4,54 abc B	18,57 de A	19,46 a A	8,97 ab A	236
P17	5,59 de B	16,98 a A	4,41 ab A	15,98 cdefg A	14,48 ab A	2,86 bc B	16,93 de A	16,77 a A	4,7 f A	212
P18	3,96 e A	17,96 a A	4,49 ab B	5,97 j A	16,68 ab A	3,97 abc B	5,97 f A	15,69 a A	6,54 def A	40
P19	13,3 a B	17,87 a A	4,38 ab B	13,3 efgh B	15,81 ab A	4,85 a B	29,97 abc A	18,32 a A	9,86 a A	724
P20	-	14,98 a B	4,83 ab B	12,63 efgh A	17,86 a AB	5,2 a B	21,84 cd A	18,62 a A	8,31 abcd A	386

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes ao longo da mesma coluna diferem entre si ao nível de significância de 5%

Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes ao longo da mesma linha diferem entre si ao nível de significância de 5%

- não foi possível realizar coleta

MCN – Micronúcleo; IE - índice estomático; DE densidade estomática

Os resultados observados de IE não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) nos períodos de janeiro e agosto, no entanto foi observado variações desse parâmetro entre os locais de estudo. Os resultados de abril foram significativos, sendo que os maiores IE foram observados em P8 , P10, P14 e P20, que possuem tráfego veicular de 2866, 1340, 116 e 386 veículos/hora respectivamente.

Para médias de DE houve diferença significativa para os três períodos, em janeiro os maiores resultado foram observados nos pontos P4 (com tráfego de 1067 Veículos/hora), P5 (com tráfego de 1246 Veículos/hora) e P12 (com tráfego de 863 Veículos/hora). Em abril os pontos P8 (com tráfego de 2866 Veículos/hora), P10 (com tráfego de 1340 Veículos/hora), P13 (com tráfego de 262 Veículos/hora), P19 (com tráfego de 724 Veículos/hora) e P20 (com tráfego de 386 Veículos/hora) foram significativamente maiores que os demais. No período de agosto a maior média DE foi observada no ponto P19 (com tráfego de 724 Veículos/hora), diferindo significativamente dos demais, este ponto e apresenta tráfego veicular intenso, e vem seguido por P1 (com tráfego de 859 Veículos/hora), P2 (com tráfego de 865 Veículos/hora), P5 (com tráfego de 1246 Veículos/hora), P7 (com tráfego de 1328 Veículos/hora), P8 (com tráfego de 2866 Veículos/hora), P13 (com tráfego de 262 Veículos/hora), P16 (com tráfego de 236 Veículos/hora) . Observou-se também que o período o de agosto apresentou as maiores médias de DE quando comparado aos demais períodos.

As médias de MCN apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) durante todo período de biomonitoramento. No período de janeiro as maiores médias foram observadas nos Pontos P19 (com tráfego de 724 Veículos/hora), P5 (com tráfego de 1246 Veículos/hora) e P10 (com tráfego de 1340 Veículos/hora) respectivamente, já a menor média de MCN foi observada no P18 (com tráfego de 40 Veículos/hora). Em abril os maiores valores de MCN foram identificados nos pontos P7 (com tráfego de 1328 Veículos/hora), P9 (com tráfego de 1066 Veículos/hora) e P8 (com tráfego de 2866 Veículos/hora) respectivamente, caracterizado com intenso tráfego veicular e o menor valor de MCN foi observado também no P18 (com tráfego de 40 Veículos/hora) que possui baixo tráfego de veículos. No período de agosto as maiores médias de MCN foram observadas nos pontos P10 (com tráfego de 1340 Veículos/hora), P7 (com tráfego de 1328 Veículos/hora) e P19 (com tráfego de 724 Veículos/hora) respectivamente, , neste período também foi observado menor média de MCN no P18 (com tráfego de 40 Veículos/hora). É possível observar também, que no período de agosto, foram obtidas maiores médias de MCN que em janeiro e abril, para todos os locais observados.

DISCUSSÃO

Os resultados do índice e densidade estomática nos pontos amostrais distintos em relação ao tráfego veicular indicaram que estes parâmetros são ferramentas úteis para biomonitoramento de poluentes atmosféricos. Segundo Alves et al. (2001), variações anatômicas, representam estratégia adaptativa a ambientes poluídos, dificultando o deslocamento dos poluentes para o interior da folha, como encontrado em experimento utilizando clone 4430 de *Tradescantia*.

A análise de índice densidade estomática foliar da *T. pallida* demonstrou que plantas localizadas em canteiros expostos ao tráfego de veículos elevado apresentaram maiores índice e densidade estomática. Crispim et al. (2012) relataram que o maior número de estômatos está relacionado a quantidade de poluentes atmosféricos que age de maneira desfavorável para o desenvolvimento fisiológico da planta, sendo necessário seu aumento para suprir a necessidade de trocas gasosas.

Nossos resultados indicaram que as variações das condições climáticas (umidade relativa do ar e pluviosidade) influenciaram parâmetros de índice e densidade estomática e também o número de micronúcleos em *T. pallida*. No período de agosto foram verificados os menores índices de umidade relativa do ar e pluviosidade, com isso houve aumento dos valores de IE, DE e MCN. Os resultados corroboram como obtidos por Cavaleiro et al.(2013) e Pereira et al. (2013), os quais permitem concluir que danos anatômicos e genéticos podem ser agravados em condições climáticas desfavoráveis, dificultando a dispersão dos poluentes na atmosfera.

Apesar de fatores climáticos terem influência sobre as características anatômicas e genéticas em *T. pallida*, o fator determinante para as alterações foi o aumento do tráfego de veículos nos locais monitorados. Alves et al. (2008) observaram diferenças na densidade estomática entre espécies de *Eugenia uniflora* L. coletadas em locais com diferentes níveis de poluição atmosférica. Observações similares foram relatadas por Crispim et al. (2012), Meireles et al. (2009), Prajapati e Tripathi (2008), demonstrando maior número de micronúcleos em *T. pallida*, em áreas urbanas com maior concentrações de contaminantes atmosféricos.

As análises de MCN, realizadas por meio do teste Trad-MCN, indicaram maior média de micronúcleos em pontos expostos a intenso tráfego veicular, principalmente nos locais caracterizados com alta circulação de veículos pesados. Estes resultados

corroboram com estudo de Spósito et al. (2015) e Costa e Droste (2012) que observaram correlação entre o tráfego de veículos intenso e maiores ocorrências de micronúcleos em *T. pallida*.

De forma geral, o teste Trad-MCN indicou que o danos observados no ponto controle (P18), foram menores quando comparado aos demais pontos monitorados. Santos et al. (2015) observaram menor frequência de micronúcleo no controle, o qual apresentava baixo tráfego automotivo e ausência de indústrias.

É importante ressaltar que os 20 pontos estudados, com suas variações de tráfego veiculares, serviram para demonstrar que a *T. pallida* pode refletir as condições locais, com alterações genéticas e em células estomáticas quando expostas a diferentes ambientes. Nesse contexto, os dados da literatura corroboram com os resultados obtidos neste estudo.

CONCLUSÕES

O teste de Trad-MCN e os parâmetros anatômicos analisados em *T. pallida* nos 20 pontos estudados, demonstraram ser eficazes para avaliação dos efeitos causados pelo tráfego veicular diferenciado na cidade de Dourados – MS, quando associados as diferentes condições de umidade relativa do ar e pluviosidade que a cidade apresenta, em diferentes períodos do ano. Com isso, pode-se dizer que a *T. pallida* é um excelente bioindicador da qualidade do ar e susceptível aos efeitos dos poluentes atmosféricos. Pesquisas complementares, devem ser realizadas para diagnosticar a qualidade do ar na cidade e para que seja possível propor medidas para minimizar os danos ao meio ambiente e a possíveis danos à saúde humana.

REFERÊNCIAS

- Aguiar TV, Santos BFS, Azevedo AA, Ferreira RS (2007) ANATI QUANTI: Quantitative analysis software for studies on anatomy plant. Rev. Planta Daninha, Viçosa - MG 25(4): 649-659
- Alves ES, Giusti PM, Domingos M, Saldiva PHN, Guimarães ET, Lobo DJA (2001) Anatomic studies on *Tradescantia* hybrid clone 4430 leaves: changes caused by urban Air pollution. Rev Bras Bot 24: 567-576
- Alves ES, Tresmondi F, Longui EL (2008) Structural analysis of leaves of *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) collected in rural and urban areas, SP, Brazil. Acta Bot. Bras. 22:241–248
- Balasoorya BLWK, Samson R, Mbikwa F, Vitharana, UWA (2009) Bio-monitoring of urban habitat quality by anatomical and chemical leaf characteristics. Environ. Exp. Bot. 65 (2-3): 386-394
- Braga A, BÖHM GM, PEREIRA LAM, SALDIVA P (2001) Air Pollution and Effects on Human Health. Rev. USP São Paulo, 51: 58-71
- Boettcher M, Grund S, Keiter S, Kosmehl T, Reifferscheid G, Seitz N, Rocha PS, Hollert H, Braunbeck T (2010) Comparison of in vitro and in situ genotoxicity in the Danube River by means of the comet assay and the micronucleus test. Mut Res 700:11-17
- Carreras HA, Pignata ML, Saldiva PHN (2006) In situ monitoring of urban air in Cordoba, Argentina using the *Tradescantia*-micronucleus (Trad-MCN) bioassay. Atmos. Environ. 40:7824–7830
- Carvalho HA (2005) The *Tradescantia* as vegetable bioindicator in monitoring clastogenic effects of ionizing radiation. Radiologia Brasileira, 38 (6): 459-462
- Cavalheiro CV, Rocha LD, Maranhão LY (2013) The Bioindicative Potential Evaluation of *Tabebuia alba* (Cham.) Sandwith, Bignoniaceae, in Urban Atmospheric Pollution. Braz. Arch. Biol. Technol. 56 (4): 691-698
- Costa GM, 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. Braz. J. Biol. 72: 801-806

Crispim BA, Vaini JO, Grisolia AB, Teixeira TZ, Mussury RM, Seno LO (2012) Biomonitoring the genotoxic effects of pollutants on *Tradescantia pallida* (Rose) D.R. Hunt in Dourados, Brazil. *Environ Sci Pollut Res* 19: 718-723

Crispim BA, Spósito JCV, Mussury RM, Seno LO, Grisolia AB (2014) Effects of atmospheric pollutants on somatic and germ cells of *Tradescantia pallida* (Rose) D.R. Hunt cv. *purpurea*. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences* 86 (4): 1899-1906

De Temmerman L, Bell JNB, Garrec JP, Klumpp A, Krause GHM, Tonneijck AE (2004) Biomonitoring of air pollutants with plants – onsiderations for the future. In: Klumpp A, Ansel W, Klumpp G. (eds). *Urban Air Pollution, Bioindication and Environmental Awareness*. Cuvillier Verlag, Gottingen. 337-373

Denatran (2014) Frota veicular. <http://www.denatran.gov.br/frota.htm>. Accessed 28 october 2014

Embrapa (2014) Guia Clima. Estação da Embrapa Agropecuária oeste – Dourados/MS. <http://clima.cpao.embrapa.br/?lc=site/banco-dados/construtor-basico>. Accessed 24 october 2014

Guarieiro LLN, Vasconcellos PC, Solci MC (2011) Air Pollutants from the Burning of Fossil Fuels and Biofuels: A Brief Review. *Rev. Virtual Quim.* 3 (5), 434-445. <http://www.uff.br/rvq>. Accessed 26 October 2014

Guimarães ET, Domingos M, Alves ES, Caldini JN, Lobo DJA, (2000) 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. *Environ and Exp. Bot.* 44: 1-8

IBGE (2014) Diretoria de Pesquisas - DPE - Coordenação de População e Indicadores Sociais – COPIS. <http://cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?lang=&codmun=5003702>. Accessed 24 october 2014

Isidori M, Ferrara M, Lavorgna M, Nardelli A, Parrella A (2003) In situ monitoring of urbana ir in Southern Italy with the *Tradescantia* micronucleus bioassay and semipermeable membrane devices (SPMDs). *Chemosphere*, v. 52, p. 55-61

Kardel F, Wuyts K, Babanezhad M, Vitharana UWA, Wuytack T, Potters G, Samson R (2010) Assessing urban habitat quality based on specific leaf area and stomatal characteristics of *Plantago lanceolata* L. *Environ Pollut.* 158: 788-794

Ma TH (1981). *Tradescantia* micronucleus bioassay and pollen tube chromatid aberration test for in situ monitoring and mutagen screening. *Environmental health perspectives* 37: 85-90.

Meireles J, Rocha R, Neto AC, Cerqueira E (2009) Genotoxic effects of vehicle traffic pollution as evaluated by micronuclei test in *tradescantia* (Trad- MCN). *Mutat Res* 675:46–50

Nali C, Lorenzini G (2007) Air quality survey carried out by schoolchildren: an innovative tool for urban planning. *Environmental Monitoring Assessment.* 131(1-3): 201-210

Pereira BB, Campos JEO, Morelli S (2013) In situ biomonitoring of the genotoxic effects of vehicular pollution in Uberlandia, Brazil, using a *Tradescantia* micronucleus assay. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 87, 17–22

Prajapati SK, Tripathi BD (2008) Assessing the genotoxicity of urban air pollutants in Varanasi City using *Tradescantia* micronucleus (Trad-MCN) bioassay. *Environment International* 34 1092–1096

Santos APM, Susana ISM, Nadal M, Takayanagui AMM (2015) Traffic-related air pollution biomonitoring with *Tradescantia pallida* (Rose) Hunt. cv. *purpurea* Boom in Brazil. *Environ Monit Assess* 187: 39

Spósito JCV, Crispim BA, Mussury RM, Grisolia AB (2015) Genetic instability in plants associated with vehicular traffic and climatic variables. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 120, 445–448

Suyama F, Guimarães E, Guimarães ET, Lobo DJA (2002) Pollen mother cells of *Tradescantia* clone 4430 and *Tradescantia pallida* var. *purpurea* are equally sensitive to the clastogenic effects of X-rays. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research,* 34, 127-129

Umbuzeiro G, Franco A, Martins MH, Kummrow F, Carvalho L, Schmeiser HH, Leykauf J, Stiborova M, Claxton LD (2008) Mutagenicity and DNA adduct formation of PAH, nitro-PAH, and oxy-PAH fractions of atmospheric particulate matter from São Paulo, Brazil. *Mutat Res* 652:72–80

Wilkinson HP (1979) The Plant Surface. In Metcalfe, C. R. and Chalk; L. *Anatomy of the Dicotyledons*. Oxford, Clarendon Press, 1: 97 - 165